

Aus der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin Rostock

Direktor: Prof. Dr. med. Michael Radke

**Der Einfluss des Rauchens und des Koffeinkonsums auf die  
Entgiftungsfunktion der Leber untersucht mittels eines [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin- und  
eines [Trimethyl- $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemgastests**

**Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin  
an der Universitätsmedizin Rostock**

**Vorgelegt von  
Silvia Nern  
aus Hohenzieritz / Mecklenburg-Vorpommern**

Dekan:	Professor Dr. med. E. Reisinger
1. Gutachter:	Professor Dr. rer. nat. habil. Klaus-Dieter Wutzke Universität Rostock Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
2. Gutachter:	Professorin Dr. med. Barbara Braden Oxford University Hospitals NHS, United Kingdom
3. Gutachter:	Professor Dr. hab. n. med. Krzysztof Jonderko Medical University of Silesia, Poland
Tag der Einreichung:	14.07.2016
Tag der Verteidigung:	04.10.2017

Diese Arbeit widme ich meinen Kindern.

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	8
2	Stand des Wissens	10
2.1	Koffein	10
2.1.1	Grundlegendes zum Koffein	10
2.1.2	Zentrale Wirkung von Koffein	11
2.1.3	Symptomatik des menschlichen Körpers bei Koffeinzufuhr	11
2.2	Nikotin	12
2.2.1	Grundlegendes zum Nikotin	12
2.3	Die Beurteilung der Leberfunktion	13
2.4	Die Bedeutung des Cytochrom P450-Systems	14
2.5	Stabile Isotope	14
2.6	[ <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]Aminopyrin-Atemgastest	15
2.7	[ <sup>13</sup> C <sub>3</sub> ]Coffein-Atemgastests	16
2.8	Klinische Relevanz der Studie	16
3	Zielstellung	19
4	Material und Methoden	20
4.1	Probanden	20
4.1.1	Einschlusskriterien für Probanden bzgl. Nikotinkonsum	20
4.1.2	Ausschlusskriterien für Probanden	21
4.1.3	Anzahl und individuelle Daten der Probanden	21
4.2	Ethikvotum	22
4.3	Materialien	23
4.3.1	Kaffee	23
4.3.2	Tracersubstanzen	23
4.3.3	Nikotinaufnahme durch die Raucherprobanden	24
4.4	Versuchsdurchführung	25
4.4.1	Dauer und Ablauf der Testreihen	25
4.4.1.1	Versuchsablauf mit Nichtraucherprobanden	25
4.4.1.2	Versuchsablauf mit Raucherprobanden	26

4.4.2	Mahlzeiten	27
4.4.2.1	Frühstück	27
4.4.2.2	Mittagessen	27
4.4.3	Tracereinnahme	27
4.4.4	Ablauf eines Testtages	28
4.4.4.1	Regeln für den Tagesablauf der Probanden-Gruppen	28
4.4.5	Probenahme und Aufbewahrung der Proben	28
4.5	Messmethode	29
4.5.1	Infrarotspektroskopie-Analysator	29
4.6	Statistische Berechnungen	29
4.6.1	Delta over Baseline (DOB)	29
4.6.2	Kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalationen	29
4.6.3	Berechnung der Tracer-Dosis	30
4.6.4	Berechnung des $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -Wertes	30
4.6.5	Berechnung der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalationen	30
4.6.6	Statistische Auswertung	30
4.6.6.1	Berechnung und Auswertung der DOB-Werte	31
4.6.6.2	Berechnung und Auswertung der $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation	31
5	Darstellung der Ergebnisse	32
5.1	$^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $^{13}\text{C}_2$ Aminopyrin- und $^{13}\text{C}_3$ Coffein-Gabe bei Rauchern und Nichtrauchern unter Koffeinabstinenz	32
5.2	$^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $^{13}\text{C}_3$ Coffein-Gabe bei Rauchern und Nichtrauchern unter Koffeinkonsum	34
5.3	$^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $^{13}\text{C}_3$ Coffein-Gabe vor und nach Koffeinkonsum bei Nichtrauchern und Rauchern	35
5.4	$^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $^{13}\text{C}_2$ Aminopyrin-Gabe bei Frauen und Männern unter Koffeinabstinenz	37

5.5	$^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $^{13}\text{C}_3$ Coffein-Gabe bei Frauen und Männern unter Koffeinabstinenz	40
5.6	$^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $^{13}\text{C}_3$ Coffein-Gabe bei Frauen und Männern unter Koffeinkonsum	42
5.7	Zusammenfassende Darstellung aller Tests	44
6	Diskussion	51
6.1	Diskussionen des Studiendesigns	51
6.1.1	Diskussion der Testdurchführung	51
6.1.1.1	Testdurchführung zur Untersuchung des Koffeineinflusses	51
6.1.1.2	Testdurchführung zur Untersuchung des Nikotineinflusses	52
6.1.2	Rekrutierung der Probanden	53
6.1.3	Einschluss- und Ausschlusskriterien für Probanden	54
6.1.4	Nicht-dispersive Infrarot-Spektroskopie vs. Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie als Messmethode für den DOB-Wert im Atemgas	55
6.1.5	Kombination und Interaktionen der Tracersubstanzen	56
6.1.6	Metabolisierungswege der Tracersubstanzen	56
6.1.6.1	Metabolisierung von $^{13}\text{C}_2$ Aminopyrin	57
6.1.6.2	Metabolisierung von [Trimethyl- $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein	58
6.1.7	Externe Einflussfaktoren auf den AAT-Atemtest	59
6.1.7.1	Einfluss der Dauer der Nahrungskarenz auf die $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation	59
6.1.8	Interaktionen	60
6.1.8.1	Interaktion zwischen den $^{13}\text{C}_3$ Coffein und Koffein	60
6.1.8.2	Interaktion zwischen $^{13}\text{C}_2$ Aminopyrin und Koffein	61
6.1.8.3	Interaktion zwischen den Tracern $^{13}\text{C}_3$ Coffein und $^{13}\text{C}_2$ Aminopyrin und Nikotin	62
6.2	Diskussion der Messwerte	63
6.2.1	$^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit nach Tracer-Gabe	63
6.2.2	Einfluss von Koffein auf die Entgiftungsfunktion der Leber	64
6.2.3	Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter Koffeinabstinenz und Koffeinkonsum	65

6.2.4	Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit vor und nach Koffeinkonsum bei Nichtrauchern	66
6.2.5	Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation vor und nach Koffeinkonsum bei Rauchern	66
6.3	Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation zwischen Männern und Frauen	67
6.4	Einfluss von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber	68
6.4.1	Wirkung von Nikotin auf das zentrale und periphere Nervensystem	68
6.4.2	Wirkung des Nikotins im menschlichen Organismus	68
6.4.3	Nutzung des $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin-Atemtests für die Untersuchung des Einflusses von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber	69
6.4.4	Nutzung des $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Atemtestes für die Untersuchung des Einflusses von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber	70
6.4.5	Differenzierung zwischen Männern und Frauen durch den $[^{13}\text{C}_3]$ Aminopyrin-Atemtest	71
6.4.6	Ursachen für Abweichungen in der Enzymaktivität im $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin-Test zu der Vergleichsstudie von Caubet et al. (2002)	72
6.5	Praxisrelevanz von Atemgastests	73
6.5.1	Praxisrelevanz des $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin-Atemgastests	73
6.5.2	Praxisrelevanz des $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Atemgastests	74
6.6	Interaktionen zwischen Tracern	74
7	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	76
8	Thesen	78
9	Literaturnachweis	82
10	Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	89
11	Verzeichnis der Abkürzungen	92
	Selbständigkeitserklärung	93
	Danksagung	94
	Anhang	95
	Lebenslauf	98

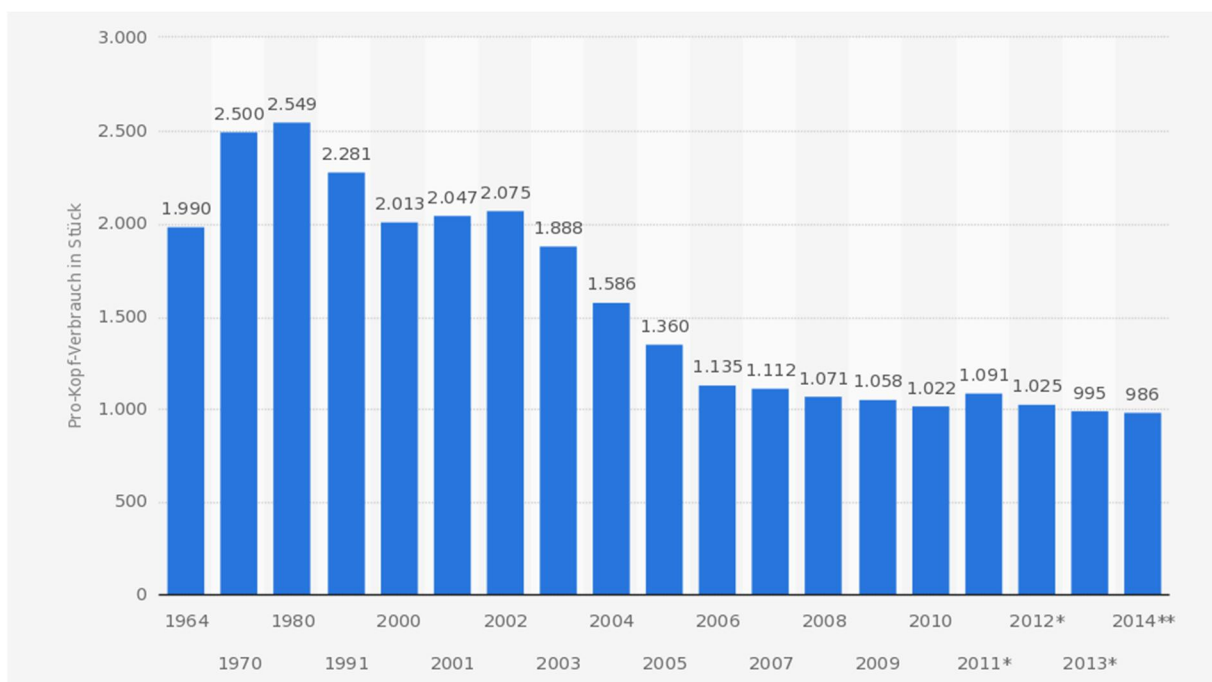
# 1 Einleitung

Nikotin und Koffein sind zwei Substanzen, deren Konsum über Tabakwaren und Kaffee für viele Menschen alltäglich geworden ist. Für die Medizin ist es von Bedeutung, deren Wirkungsweise im Organismus, wie zum Beispiel den Einfluss auf die Funktion innerer Organe, zu klären.

Bereits 1862 promovierte Brill zum Thema: „Koffein in chemischer, physiologischer und therapeutischer Hinsicht“. Er trug Literatur zusammen, in der die Koffeinwirkung u.a. in Tierexperimenten untersucht wurde, um daraus Rückschlüsse für den Menschen zu ziehen. (Brill und Falck, 1862)

Im Jahr 2014 weist das statistische Bundesamt einen jährlichen Pro-Kopf-Verbrauch von 986 Zigaretten aus (Abb. 1). Seit den 1980-er Jahren ist der Anteil der Raucher an der erwachsenen Bevölkerung leicht rückläufig. In Deutschland rauchen insgesamt 29,7 % Frauen und Männer ab 18 Jahren. Männer rauchen (32,6 %) häufiger als Frauen (27 %) (BMG, 2015).

2013 rauchten in Mecklenburg-Vorpommern 28,2 % der ab 15-Jährigen, davon waren 22,8 % Frauen und 33,9 % Männer. Damit liegt das nordöstliche Bundesland im deutschen Ländervergleich deutlich über dem Durchschnitt. (StatA MV, 2015)

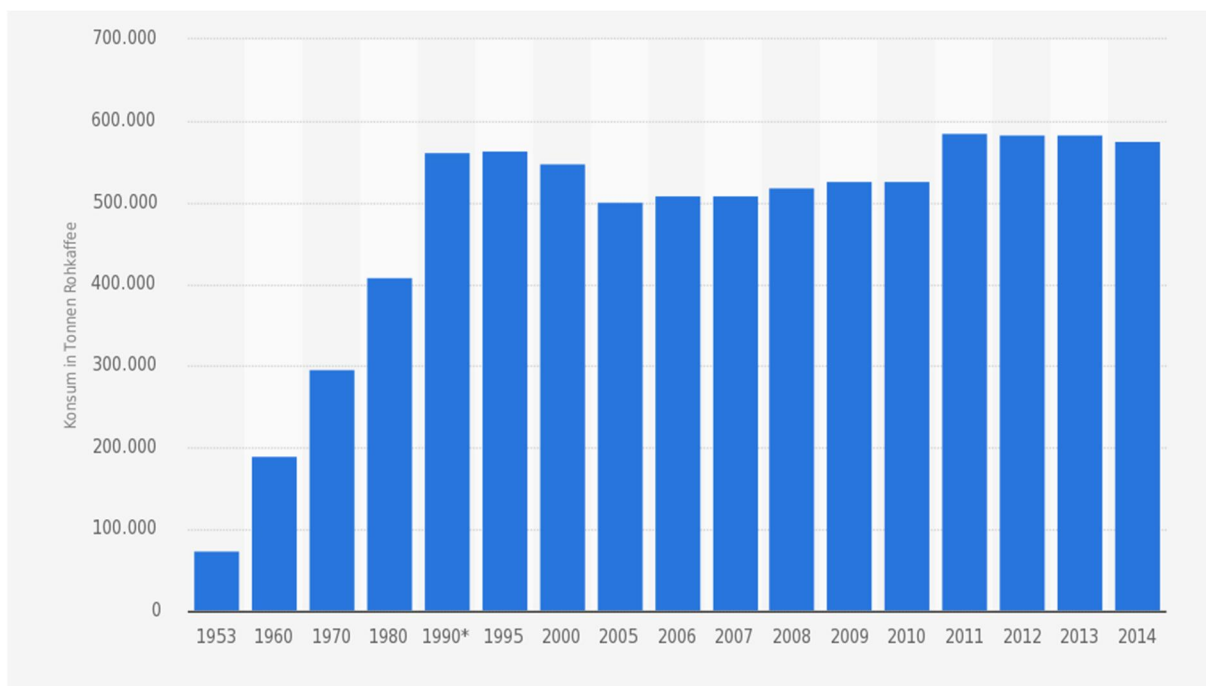


**Abbildung 1: Pro-Kopf-Verbrauch von Zigaretten in Deutschland in den Jahren 1964 bis 2014 (in Stück, Grafik freigegeben durch Statista GmbH, 2015b)**



Nach einer Studie des Unternehmens ARAL® aus dem Jahr 2011 tranken 94 % der Deutschen ab dem 18. Lebensjahr Kaffee, davon 73 % täglich. Der Anteil der Nicht-Kaffee-Trinker im höheren Alter tendiert gegen Null. In der jüngeren Generation wird zwar weniger häufig Kaffee getrunken, sie ist jedoch experimentierfreudiger hinsichtlich der Kaffeezubereitung. Auch unter den Kaffeetrinkern zählt Mecklenburg-Vorpommern neben Berlin und Brandenburg zu den 3 Bundesländern mit der höchsten Quote. (ARAL AG, 2011)

Kaffee ist das beliebteste Getränk in der Bundesrepublik. 2014 wurden fast 600.000 t Rohkaffee, das sind pro Kopf 7,1 kg, konsumiert (Abb. 2). Der Pro-Kopf-Konsum von Kaffee in Deutschland lag mit 162 l auf einem hohen Niveau, was ein Vergleich mit dem Konsum von Heil- und Mineralwasser (143,5 l) oder Bier (107 l) verdeutlicht. (Thielemann, 2015)



**Abbildung 2: Konsum von Kaffee in Deutschland in den Jahren 1953 bis 2014  
(in Tonnen Rohkaffee, Grafik freigegeben durch Statista GmbH, 2015a)**

Da der Genuss von Nikotin und Kaffee in Mecklenburg-Vorpommern eine so große Rolle spielt, erscheint es sinnvoll, den Einfluss beider Substanzen auf die Leber, dem Hauptabbauort für Gifte im menschlichen Körper, zu untersuchen. Dabei soll die Erkenntnis von Paracelsus „*Dosis sola facit venenum*“ nicht außer Acht gelassen werden.

Die Tatsache, dass die Medikamenteneinnahme im Alter zunimmt, unterstreicht die Bedeutung der Berücksichtigung des Einflusses von Koffein und Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber. Bei der Untersuchung der Wirkung von Nikotin und Koffein, ist das unterschiedliche Abhängigkeitspotenzial des menschlichen Organismus von diesen Substanzen zu berücksichtigen. Während man dem Koffein keine körperliche Abhängigkeit zuschreibt, ruft das Nikotin eine Sucht hervor. Aber auch das Zusammenspiel beider Substanzen hinsichtlich des Suchtpotenzials ist von Interesse. (Herbig, 1942, Mühleib und Detering, 1996, Karow und Lang-Roth, 2013, DKFZ, 2014)

## 2 Stand des Wissens

### 2.1 Koffein

#### 2.1.1 Grundlegendes zum Koffein

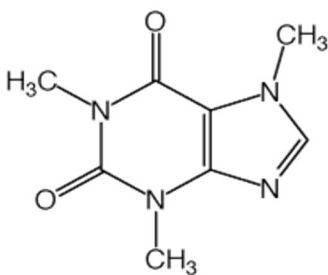


Abbildung 3: Chemische Strukturformel des Koffeins (Frings, 2005)

In der Natur findet man Koffein in Kaffeebohnen, Tee- und Mateblättern, Kolanüssen sowie in Blättern, Samen und Früchten von über 60 weiteren Pflanzenarten. Koffein ist Bestandteil des Kaffees und des Tees, ist aber auch in Cola-Getränken, Schokolade, Eiscreme und Energydrinks enthalten. Koffein ist ein Alkaloid (Xanthin-Derivat), das den Pflanzen als Schutz vor natürlichen Fressfeinden dient. Eine Tasse Kaffee enthält etwa 100 mg Koffein, eine Tasse Tee etwa 50 mg und eine Tasse Kakao etwa 10 mg. (Graefe et al., 2011)

Die höchste Konzentration von Koffein im Blut wird 30 bis 60 Minuten nach der oralen Aufnahme erreicht. Der menschliche Körper setzt das Koffein im Stoffwechsel um und scheidet nur sehr geringe Mengen wieder aus. Die Halbwertszeit (HWZ) von Koffein beträgt 3 bis 3,5 Stunden (Czok, 1966).

Die positive Wirkung des Koffeins auf den Menschen ist in folgenden physiologischen Aspekten zu sehen:

- Erhöhung der Konzentrations- und Leistungsfähigkeit (Ritchie et al., 2010)
- Erhöhung der psychischen Aktivität (Nieber et al., 2007)
- Erhöhung der Verhaltensaktivität (Aggarwal et al., 2011)
- Senkung des Gefühls von Müdigkeit und Abgeschlagenheit (Nieber et al., 2007)
- Gesteigerte Herzleistung (Nieber et al., 2007)
- Erhöhung der Magensaftsekretion (Forth, 2001)
- Verengung der Blutgefäße im Gehirn und somit Verminderung von Kopfschmerzen (Graefe et al., 2011)

Aufgrund einer veränderten Empfindlichkeit für Arzneimittelwirkungen kann es bei alten Menschen zu einer paradoxen Zunahme des Schlafbedürfnisses nach Koffeinsubstitution kommen. (Eichler und Ammon, 1976, Kersting, 2009)

Da Koffein den Dopaminhaushalt beeinflusst, kann auch auf diesem Weg eine Abhängigkeit entstehen. (Chou, 1992, Fredholm et al., 1999).

Ab einer Dosis von über 1 g Koffein können zerebrale Krampfanfälle auftreten und schon eine Verabreichung von über 3 g kann tödliche Folgen haben. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass ein Absetzen des Koffeins Entzugerscheinungen wie Kopfschmerzen, Müdigkeit, Reizbarkeit und Nervosität hervorruft, obwohl Koffein im Allgemeinen nicht zu den suchterzeugenden Drogen gezählt wird. (Mühleib und Detering, 1996, Karow und Lang-Roth, 2013)

### **2.1.2 Zentrale Wirkung von Koffein**

Die zelluläre Wirkung des Koffeins besteht in einer Blockade von Adenosin-Rezeptoren. Der Neuromodulator Adenosin (AMP) wirkt auf Nervenzellen sedativ, was durch die Blockade der Adenosin-Rezeptoren durch Koffein aufgehoben wird. Ein weiterer Wirkungsmechanismus des Koffeins ist die Inhibierung der cAMP-spaltenden Phosphodiesterase. Cyclisches-AMP ist ein kurzlebiger second messenger, dessen HWZ durch Koffein erhöht wird. (Frings, 2005)

### **2.1.3 Symptomatik des menschlichen Körpers bei Koffeinzufuhr**

Koffein wirkt hauptsächlich psychostimulierend und damit stimmungsaufhellend. Dies beruht auf der zuvor erwähnten antagonistischen Wirkung des Adenosin-Rezeptors,

worauf auch die konstriktorische Wirkung menigialer und zerebraler Arterien und die natriuretische Wirkung des Koffeins zurückzuführen ist. Die Folge der Phosphodiesterase-Hemmung ist eine Dilatation der peripheren Blutgefäße. Im Zusammenspiel dieser beiden Mechanismen sind die Anregung der Atmung, die Zunahme des Sympathikotonus, die Bronchodilatation und die positiv inotrope und chronotrope Wirkung des Substrates zu sehen. (Graefe et al., 2011)

## 2.2 Nikotin

### 2.2.1 Grundlegendes zum Nikotin

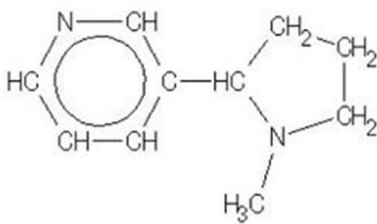


Abbildung 4: Chemische Strukturformel des Nikotins (Frings, 2005)

Nikotin, ebenfalls ein Pflanzen-Alkaloid, ist eine bei Zimmertemperatur farblose, ölige Flüssigkeit, die sich an der Luft rasch braun verfärbt. Die Tabakpflanze (lat. *Nicotiana*) erzeugt dieses Alkaloid in ihren Wurzeln. Während des Reifungsprozesses der Pflanzen wandert das Nikotin in die Blätter und dient dort der Abwehr von Schädlingen. (Bannier, 2008)

Nikotin ist, als einer der insgesamt ca. 4000 Inhaltsstoffe des Tabaks, dessen psychoaktiver Bestandteil. Im Zigarettenrauch ist das Nikotin an Teerpartikel gebunden. Eine handelsübliche Zigarette enthält zwischen 0,5 und 2,0 mg Nikotin, jedoch werden nur 20 % davon beim Rauchen inhaliert und gelangen so in den Blutstrom des Menschen. Die HWZ des Nikotins beträgt etwa 2 Stunden. Die Auswirkung auf den Organismus zeigt sich in pharmakologischen Effekten, wie (Landgraf, 2013, DKFZ, 2014, Langer, 2014):

- Erhöhung der psychomotorischen Aktivität,
- Erhöhung der kognitiven Funktionen,
- Erhöhung der Wachsamkeit, der Sensomotorik und der Aufmerksamkeit,
- Erhöhung des Herzschlags, des Blutdrucks und der Herzkontraktilität.

Erkrankungen, die dem Zigarettenkonsum zugeschrieben werden, wie ein erhöhtes Risiko von Herzerkrankungen, chronischer Bronchitis, Arteriosklerose der Beinarterien und ein erhöhtes Krebsrisiko (Kehlkopf, Mundhöhle, Bauchspeicheldrüse, Magen, Nieren) sind anderen Bestandteilen zuzuschreiben, wie z. B. dem Teer, Nitrosaminen, Ammoniak, Kohlenmonoxid und Schwermetallen.

Im Gegensatz zum Koffein ist beim Nikotin eine eindeutige physische und psychische Abhängigkeit nachweisbar, welche sich bei Abstinenz durch Entzugserscheinungen wie Sehnsucht nach der Substanz, leichte Reizbarkeit, Beklemmung, Angst, Konzentrationsprobleme und Schlaflosigkeit zeigt. Tabakwaren sind neben Alkohol die am häufigsten konsumierten Suchtmittel in Deutschland. (Rocklage und Pittrich, 2001, Zagermann-Muncke, 2004, DKFZ, 2014)

Besonders in der Schwangerschaft sind die Wirkungen von Nikotin bedrohlich. Aufgrund von Sauerstoffmangel durch eine reduzierte Sauerstoffzufuhr zum Fötus kann es zu Frühgeburten, Fehlgeburten und im schlimmsten Fall Totgeburten kommen. Außerdem sind irreversible psychische Schäden wie niedrige Intelligenzquotienten und Aufmerksamkeits-Defizit-Syndrom/ Hyperaktivität nicht auszuschließen. Während der Stillperiode stellt die Zufuhr des Nikotins über die Muttermilch ebenfalls eine Gefahr für den Säugling dar. (Thomalla, 2014)

### **2.3 Die Beurteilung der Leberfunktion**

Um die Leber und ihre Funktion zu beurteilen, wird im klinischen Alltag nach der Anamnese der körperliche Status erhoben, eine Blutuntersuchung veranlasst und eine Abdomensonographie durchgeführt. Zu chronischen Erkrankungen der Leber zählen chronische Virushepatiden, Autoimmunhepatitis, ziliare Krankheiten, hereditäre Stoffwechselkrankheiten und zirkulatorische Störungen (Maier, 2010, Schmidt und Becker, 2015).

Veränderungen der Haut geben z.B. Hinweise auf eine Leberzirrhose. Diese Anzeichen sind jedoch häufig erst bei einer manifestierten Leberzirrhose erkennbar. In Frühstadien werden oft nur unspezifische Symptome, wie Abgeschlagenheit, Leistungsknick und vermehrte Müdigkeit, angegeben. (Maier, 2010)

Über eine Ultraschalluntersuchung sind morphologische Veränderungen der Leber zu erkennen (Schmidt und Becker, 2015). Eindeutig sind die Schädigungen der Leber jedoch nur über Laborparameter zu diagnostizieren. Marker für eine Zellnekrose sind die Enzyme Alanin-Aminotransferase (ALAT), Aspartat-Aminotransferase

(ASAT) und Glutamatdehydrogenase (GDH). Während die ALAT ein ausschließlich zytosolisches Enzym ist, kommt die ASAT sowohl im Zytosol als auch in den Mitochondrien vor, die GDH hingegen nur in den Mitochondrien. Durch dieses Verteilungsmuster lässt sich an Hand der Laborkonstellation die Schwere eines Leberschadens abschätzen. Bei geringen Schäden wird die ALAT stärker als die ASAT erhöht sein, während bei massiveren Schäden davon ausgegangen werden muss, dass vor allem die mitochondrialen Enzyme verstärkt nachweisbar sind und somit die ASAT und die GDH-Werte hoch sein werden. (Klinker, 2014)

Parameter für die Zellfunktionen der Leber, also Syntheseleistung und Entgiftungskapazität, sind eher der Gehalt an Albumin, den Gerinnungsfaktoren (Quick), Lipoproteinen und Ammoniak. Die Beurteilung des Albuminspiegels allein ist wegen seiner Halbwertszeit von nur 20 Tagen für die Diagnose akuter Leberschäden nicht ausreichend. (Schölmerich et al., 1993)

Spezifische Untersuchungsmethoden, die einen zeitlichen Verlauf abbilden, sind die  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests. Sie werden seit mehr als 30 Jahren durchgeführt und sind eine nicht-invasive Mess-Methode, die vorwiegend für Forschungszwecke eingesetzt wird. (Armuzzi et al., 2002) Eine besondere Bedeutung für diese Testverfahren hat das Kohlenstoffatom, ein zentrales Element des menschlichen Organismus bzw. sein stabiles Isotop  $^{13}\text{C}$ .

## **2.4 Die Bedeutung des Cytochrom P450-Systems**

Eine besondere Bedeutung innerhalb des Metabolismus von einer Vielzahl der Arzneistoffe nimmt das Cytochrom P450-System ein. Es ist schätzungsweise für 70 bis 80 % aller Phase-I-Umwandlungen klinisch relevanter Pharmaka verantwortlich. (Bertz und Granneman, 1997)

Das CYP-P-450-System weist eine geringe Substratspezifität auf, was ein weiterer Grund für die große Anzahl klinisch bedeutender Interaktionen ist, die auf Inhibition von CYPs beruhen. (Lin und Lu, 1998)

## **2.5 Stabile Isotope**

Der Begriff „stabil“ kennzeichnet den nicht radioaktiven Zustand eines Isotops, das nicht mehr zerfallen kann. In der freien Natur kommen stabile Isotope sehr häufig vor. In einigen Atomkernen des weniger häufigen stabilen Isotops eines Elements befindet sich ein zusätzliches Neutron, das die Massenzahl erhöht, das Atom jedoch in

seiner Stabilität nicht beeinträchtigt. Eines der bedeutendsten stabilen Isotope für die Forschung ist  $^{13}\text{C}$ Kohlenstoff ( $^{13}\text{C}$ ), welches auch bei den Tests der vorliegenden Arbeit zum Einsatz kam und seinem wesentlich häufiger vorkommenden Äquivalent, dem  $^{12}\text{C}$ Kohlenstoff ( $^{12}\text{C}$ ) in den biochemischen Eigenschaften gleicht.

Um ein geeignetes Substrat für einen Atemgastest, den sogenannten Tracer, zu synthetisieren, werden funktionelle Gruppen bestimmter Moleküle mit  $^{13}\text{C}$  markiert. Aufgrund der identischen biochemischen Eigenschaften werden die  $^{13}\text{C}$ -markierten funktionellen Gruppen im menschlichen Organismus durch die gleichen Enzyme wie die natürlich vorkommenden  $^{12}\text{C}$ -unmarkierten funktionellen Gruppen verstoffwechselt und abgebaut. Die mit dem Isotop  $^{13}\text{C}$  markierten funktionellen Gruppen werden oxidiert, decarboxyliert oder hydrolysiert und entweder so oder über Zwischenprodukte in Form von  $^{13}\text{CO}_2$  ausgeatmet. Durch bestimmte Messverfahren, z. B. mit Hilfe eines Isotopenverhältnis-Massenspektrometers, wird die in der Atemluft enthaltene Konzentration des  $^{13}\text{C}$  gemessen. Die Messergebnisse werden statistisch und grafisch ausgewertet, um den Verlauf biologischer Stoffwechselwege darzustellen. (Wetzel und Fischer, 2001)

Weitere stoffwechselrelevante stabile Isotope sind  $^{15}\text{N}$ Stickstoff ( $^{15}\text{N}$ ),  $^{18}\text{O}$ Sauerstoff ( $^{18}\text{O}$ ) und  $^2\text{H}$ Wasserstoff ( $^2\text{H}$ ). Die Anwendung von stabilen Isotopen wird bei klinischen Untersuchungen von Kindern und Schwangeren favorisiert. Stabil isotop markierte Tracersubstanzen kommen aber auch häufig in der klinischen Forschung bei Erwachsenen und in der diagnostischen Gastroenterologie zum Einsatz. (Caspary et al., 1976, Klein und Klein, 1985, Braden et al., 1991, Jones und Leatherdale, 1991, Braden et al., 1999, Wetzel und Fischer, 2001)

## **2.6 [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Atemgastest**

Mit dem weit verbreiteten [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Atemgastest (AAT) wird die mikrosomale metabolische Kapazität der Leberzellen erfasst. Die Substanz Aminopyrin, die zunächst in der Schmerztherapie eingesetzt wurde, wird schnell und ausschließlich in der Leber umgebaut. Der Nachweis von Aminopyrinabbauprodukten im Atem lässt somit Rückschlüsse auf die Aktivität der Leber zu. In der medizinischen Praxis konnte sich dieser Test in Deutschland jedoch nicht durchsetzen, da in 1: 10.000 bis 40.000 Fälle eine von der Substanz selbst ausgelöste Agranulozytose beobachtet wurde. Diese Komplikation wurde jedoch ausschließlich in Bezug auf die chronische Einnahme nachgewiesen, jedoch nie nach einer einmaligen Einnahme von einer ge-

ringen Menge der Substanz, welche zum Atemgastest benötigt wird. (Ghoos et al., 1994)

## 2.7 [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemgastests

Die Substanz Coffein (auch Koffein) wird im menschlichen Körper ebenfalls ausschließlich in der Leber metabolisiert und kann dementsprechend, so wie Aminopyrin, zur Analyse der mikrosomalen metabolischen Leberfunktion genutzt werden (Caubet et al., 2002).

Da das Koffein fast vollständig resorbiert wird, kann es nicht nur intravenös, sondern auch oral substituiert werden. Es wird ausschließlich durch hepatische mikrosomale Enzyme, wie die Enzyme Cytochrom-P-450 oder Cytochrom-P-448, N-demethyliert. In der folgenden Abbildung 5 ist der Abbauprozess schematisch dargestellt (Abraham, 2002):

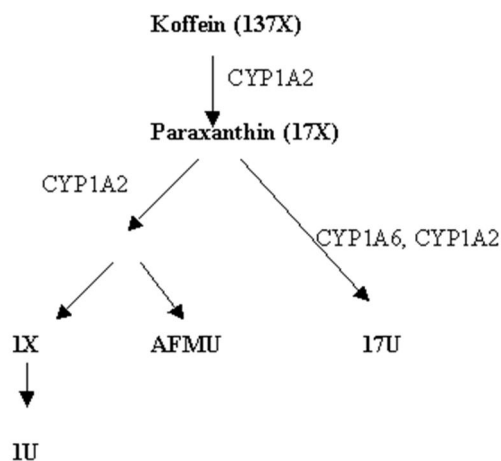


Abbildung 5: Hauptmetabolisierungswege des Koffeins (Abraham, 2002)

5-Acetylamino-6-Formylamino-3-Methyluracil (AFMU)

1-Methylxanthin (1X)

1-Methylharnsäure (1U, 1-methyluric acid)

1,7-Dimethylharnsäure (17U, 1,7-dimethyluric acid)

(Arnaud, 1987, Stavric und Gilbert, 1990, Abraham et al., 1993, Golden et al., 1994, Aramaki et al., 1995, Peck et al., 1997)

## 2.8 Klinische Relevanz der Studie

Die Leber nimmt im menschlichen Organismus eine zentrale Rolle als Entgiftungsorgan ein. Da die Mehrzahl aller Medikamente, die derzeit in der Humanmedizin



eingesetzt werden, in der Leber verstoffwechselt und abgebaut werden, ist es für die Diagnostik von entscheidender Bedeutung, die „Alltagssubstanzen“ zu kennen, die die Verstoffwechselung von Arzneimitteln beeinflussen. So ist es zum Beispiel für die medikamentöse Behandlung einer Epilepsie entscheidend, zu wissen, ob Betroffene regelmäßig Alkohol trinken. Der Einfluss von Alkohol auf die Entgiftungsfunktion der Leber ist schon lange bekannt (Hierholzer und Allolio, 1991, Wick-Urban, 2011). Armuzzi et al. (2000) zeigten, dass der Umsatz einer  $^{13}\text{C}$ -markierten Substanz durch Alkoholfuhr reduziert wird (Armuzzi et al., 2000). Dies lässt den Schluss zu, dass ein Arzneimittel, welches ebenfalls über das Enzymsystem CYP450 abgebaut wird, in Verbindung mit Alkoholkonsum nicht im ausreichenden Maße dem Körper zur Verfügung steht.

Im Forschungslabor der Universitäts-Kinderklinik Rostock wurde in der Vergangenheit eine Vielzahl von Untersuchungen mittels  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests durchgeführt. So wurde von Meinke (2006) mittels [Methyl- $^{13}\text{C}$ ]Methionin und [ $^{13}\text{C}$ ]Methacetin die Entgiftungs- und Stoffwechselfunktion der Leber unter Rotweingenuss gemessen. Eine ähnliche Testreihe führten Wutzke und Wigger (2009) mit dem Tracer [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin und L-[1- $^{13}\text{C}$ ]Phenylalanin durch. Gegenstand dieser Studie war der Einfluss von Rotwein auf die mikrosomale und zytosolische Funktion der Leber bei gesunden Probanden. Beide Untersuchungen wiesen nach, dass ein moderater Genuss von Rotwein keinen signifikanten Einfluss auf die Entgiftungsfunktion der Leber hat. (Meinke, 2006, Wutzke et al., 2008, Wutzke und Wigger, 2009)

Caubet et al. zeigten 2002 in ihrer Arbeit, dass der Zigarettenkonsum einen induzierenden Einfluss auf die Entgiftungsfunktion der Leber hat und orale Kontrazeptiva eine hemmende Wirkung besitzen. Sie nutzten für den Nachweis sowohl [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin als auch [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein als Tracer. (Caubet et al 2002)

Auch Schumacher et al. (1992) belegten eine Enzyminduktion der Leber mit Hilfe des [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Testes im Vergleich zwischen Rauchern von Filterzigaretten und filterlosen Zigaretten. (Schumacher et al., 1992)

Beide Studien unterstreichen, dass in der Medizin auch der Einfluss des Nikotins auf den Arzneimittelstoffwechsel eine Rolle spielt. Neben Alkohol und Nikotin sollte jedoch auch das Koffein nicht übersehen werden, das ein alltägliches Genussmittel ist und in erheblicher Menge von „Durchschnittspatienten“ konsumiert wird.

Die Untersuchung mittels  $^{13}\text{C}$ -markierten Tracersubstanzen bietet der Forschung die Möglichkeit, bei gesunden Probanden ohne invasive Methoden die Entgiftungsfunktion der Leber zu beurteilen.

In Anlehnung an die Studien von Wutzke und Meinke (2006, 2008, 2009) war es also von Interesse, ein Studiendesign zu entwickeln, das den Einfluss eines moderaten Konsums von Koffein und Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber darstellt.

### 3 Zielstellung

Ziel der vorliegenden Studie ist die Untersuchung des Einflusses des Koffein- und Nikotinkonsums in Form von Bohnenkaffee und Zigaretten auf die mikrosomale Entgiftungskapazität der Leber mittels eines [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin- und eines [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemgastests, anhand der infrarotspektrometrisch gemessenen  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation bei gesunden Rauchern und Nichtrauchern.

Im Einzelnen soll dabei der Einfluss des Rauchens auf die mikrosomale Leberentgiftungskapazität anhand der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation von [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin und [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein untersucht werden.

Des Weiteren sollen bei Rauchern und Nichtrauchern die Auswirkungen von Koffein auf die Entgiftungsfunktion der Leber über die Erfassung der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation nach Gabe von [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein untersucht werden.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Probanden

Für die Durchführung dieser Studie stellten sich insgesamt 17 Probanden zur Verfügung. Davon waren 12 Nichtraucher und 5 Raucher.

In der Nichtraucher-Gruppe wurden 6 Frauen und 6 Männer getestet, in der Raucher-Gruppe 3 Frauen und 2 Männer. Die Altersspanne lag zwischen 23 und 51 Jahren.

Der Body Mass Index (BMI) der Probanden wurde wie folgt berechnet (Frings, 2005):

$$\text{BMI} = \frac{\text{Körpergewicht in [kg]}}{(\text{Körpergröße in [m]})^2}$$

Die zur Berechnung benötigten individuellen Daten der Probanden wurden jeweils etwa eine Woche vor der Durchführung des ersten Testes erhoben (Tab. 1 und 2).

Im Probandenkollektiv lag der BMI zwischen 17,75 und 34,5 kg/m<sup>2</sup>.

Neben dem BMI wurde für jeden einzelnen Probanden die Körperoberfläche nach folgender Formel ermittelt (Graefe et al., 2011):

$$\text{Körperoberfläche [m}^2\text{]} = \sqrt{\frac{\text{Körpergewicht [kg]} \times \text{Körpergröße [cm]}}{3600}}$$

#### 4.1.1 Einschlusskriterien für Probanden bzgl. Nikotinkonsum

Als Nichtraucher galt in dieser Studie ein Proband, der zum Zeitpunkt der Untersuchungen nicht rauchte und auch in den letzten 26 Wochen (6 Monate) zuvor nicht geraucht hat. Dabei wurde ein möglicherweise lange zurückliegender Nikotinkonsum vernachlässigt.

Als Raucher wurden Probanden erfasst, die einen durchschnittlichen Tageskonsum von etwa 15 Zigaretten angaben, was ca. einer Schachtel Zigaretten täglich entspricht. Die Probanden versicherten, dass diese Anzahl nur in Ausnahmefällen unterschritten wurde und in der Regel eher höher liegt, sodass die 15 Zigaretten als tägliche Mindestmenge angesehen werden kann.

Das Alter der Probanden wurde auf mindestens 18 Jahren (in Deutschland Volljährigkeit) und höchstens 60 Jahren festgelegt. Die obere Altersbegrenzung war erforderlich, um auszuschließen, dass eine altersbedingte Einschränkung der Leberfunktion vorliegt.

#### **4.1.2 Ausschlusskriterien für Probanden**

Um mögliche Einflüsse auf den Leberstoffwechsel der Probanden ausschließen zu können, wurden folgende Ausschlusskriterien nach eigenen Untersuchungsergebnissen und Mitteilungen in der Literatur (Zagermann-Muncke, 2004, Wutzke et al., 2007) festgelegt:

- Dauerhafte oder temporäre Medikamenteneinnahmen
- orale Kontrazeptiva
- Krankheiten oder Operationen im Zusammenhang mit der Leber, dem Magen-Darm-Trakt (Ausnahme: Appendektomie) und/oder den Atmungsorganen
- folgende Erkrankungen (diagnostiziert oder Hinweise auf mögliche Erkrankung):
  - akute oder chronisch primäre Lebererkrankung
  - Alkohol- oder Drogenabhängigkeit
  - Niereninsuffizienz
  - Diabetes mellitus
  - Tumorerkrankung
  - Neurologische Erkrankungen, wie zum Beispiel M. Parkinson, Multiple Sklerose u.ä.
  - Kollagenosen
  - Bluterkrankungen, wie zum Beispiel Porphyrie

Klinische Zeichen einer Leberschädigung lagen bei keinem der Probanden vor.

Alle befragten Teilnehmer verneinten in der Ernährung der letzten Wochen vor Testbeginn einen erhöhten Anteil an C4-Pflanzen (wie Mais, Hirse und Zuckerrohr), die eine natürlich erhöhte <sup>13</sup>C-Häufigkeit aufweisen. Um die Testergebnisse nicht zu verfälschen, wurde darauf geachtet, dass die Probanden auch an den Testtagen keine Produkte aus Mais, Hirse oder Rohrzucker zu sich nahmen. (Dubuc et al., 2000)

#### **4.1.3 Anzahl und individuelle Daten der Probanden**

Eine Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war die Bereitschaft der Nichtraucher, insgesamt 14 Tage auf jeglichen Koffeinkonsum (Kaffee, Tee, Cola und Energydrinks) zu verzichten.

Da es in den ersten 3 Jahren der Studie nicht möglich war, Raucher zu rekrutieren, welche diese Voraussetzung erfüllten, wurde der Zeitraum für die Koffeinabstinenz für Raucher auf 6 Tage herabgesetzt.

**Tabelle 1: Individuelle Daten der Nichtraucher-Probanden**

Nr.	Geschlecht	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	KO [m <sup>2</sup> ]
1	weiblich	28	166	91	33,0	2,05
2	weiblich	28	168	55	19,5	1,60
3	weiblich	33	154	50	21,1	1,46
4	weiblich	36	164	52	19,3	1,54
5	weiblich	45	166	95	34,5	2,10
6	weiblich	45	166	95	34,5	2,10
7	männlich	23	186	69	19,9	1,89
8	männlich	24	173	69	23,1	1,80
9	männlich	26	180	83	25,6	2,04
10	männlich	38	175	105	34,3	2,30
11	männlich	39	192	93	25,2	2,20
12	männlich	51	179	87	27,2	2,10
Mittelwert		34,7	172,4	78,9	26,4	1,93
s		9,2	10,6	19,0	6,2	0,3

BMI = Body Mass Index, KO = Körperoberfläche, s = Standardabweichung

**Tabelle 2: Individuelle Daten der Raucher-Probanden**

Nr.	Geschlecht	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	KO [m <sup>2</sup> ]
1	weiblich	25	167	49,5	17,75	1,52
2	weiblich	41	175	77	25,1	1,93
3	weiblich	45	167	95	34,1	2,1
4	männlich	32	193	87	23,4	2,16
5	männlich	34	172	78	26,4	1,94
Mittelwert		35,4	174,8	77,3	25,4	1,93
s		7,8	10,7	17,2	5,9	0,3

BMI = Body Mass Index, KO = Körperoberfläche, s = Standardabweichung

## 4.2 Ethikvotum

Diese Studie wurde der Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock vorgelegt und genehmigt (IIHV10/2002).

## 4.3 Materialien

### 4.3.1 Kaffee

Für die Kaffee-Test-Phase wurde das Produkt JACOBS Krönung eingesetzt. Die Stiftung Warentest veröffentlichte Koffeingehalte verschiedener Kaffeemarken, die zwischen 1,2 und 1,9 g je 100 g Kaffeepulver lagen. Die meisten Kaffeemarken, darunter die Marke JACOBS Krönung, enthielten 1,2 g Koffein je 100 g Kaffeepulver (Stiftung Warentest, 2009), sodass eine Sorte mit einer für den Durchschnittskaffeetrinker repräsentativen Koffeinmenge gewählt wurde. Um die Aufnahme der gleichen Menge Koffein bei allen Teilnehmern zu sichern, erhielt jeder Proband eine Packung dieser Marke und einen standardisierten Kaffeemesslöffel.

Die Tagesmenge Kaffee wurde von den Probanden morgens mit handelsüblichen Kaffeemaschinen gekocht. An 7 aufeinander folgenden Tagen wurde jeden Morgen eine Kaffeemenge von 6 gestrichenen Kaffeemesslöffeln (dies entspricht einer Kaffeepulvermenge von 54 g) durch eine Filtertüte mit einer Wassermenge für etwa 6 Tassen gebrüht. Der Kaffee wurde in eine Thermoskanne gefüllt und über den Tag verteilt getrunken. Um Nebenwirkungen wie Schlaflosigkeit oder Unruhe am Abend entgegenzuwirken, tranken die Probanden jeweils 2 Tassen Kaffee am Morgen, mittags und die Restmenge bis spätestens 16:00 Uhr.

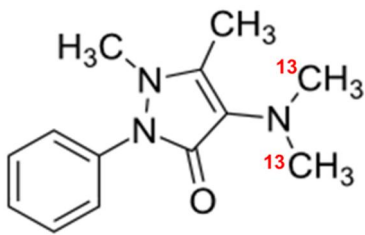
### 4.3.2 Tracersubstanzen

Für den Atemgastest wurden folgende Tracersubstanzen von Campro Scientific, Berlin verwendet:

1. [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin [4,4'-Di [ $^{13}\text{C}$ ]methylaminoantipyrin] ( $^{13}\text{C}$ -Ampy)  
Molekulargewicht: 233,3 g/mol, 98 Atom %  $^{13}\text{C}$   
Dosis: 2 mg/kg KG
2. [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein  $^{13}\text{C}$ -[N-3-Methyl]Coffein ( $^{13}\text{C}$ -Coff)  
Molekulargewicht: 197,16 g/mol, 98 Atom %  $^{13}\text{C}$   
Dosis: 1 mg/kg KG

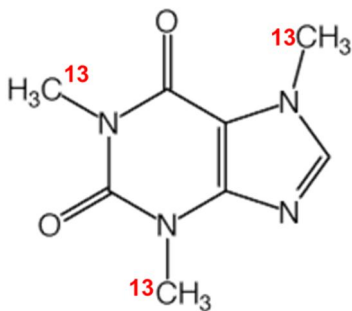
Aminopyrin ist eine Substanz, die sowohl als Analgetikum als auch als Antipyretikum eingesetzt wird. Nach oraler Aufnahme wird es vom Körper schnell und vollständig resorbiert, gleichmäßig verteilt und ausschließlich in der Leber verstoffwechselt. (Brodie und Axelrod, 1950, Branch, 1982)

Hauptverantwortlich für diese Verstoffwechselung sind die Enzyme CYP 1A2 und CYP 3A (Brockenmüller und Roots, 1994). Das dabei durch mehrere Metabolisierungsschritte entstehende  $\text{CO}_2$  wird in der Atemluft gemessen. Die Demethylierungsrate, der Standard für die Integrität der Leberfunktion, wird auf diese Weise indirekt bestimmt (Ghoos et al., 1994). Mit dieser Methode misst man die Kapazität der Leber bzw. deren Masse an funktionierenden Leberzellmikrosomen (Miotti et al., 1988).



**Abbildung 6: Strukturformel von [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin (Schulze, 2002)**

Coffein (Abb. 7) ist ein zu den Purinen (Methylxanthinen) zählendes, natürlich vorkommendes Pflanzen-Alkaloid. Man zählt es zu den Stimulanzien, weshalb es als Testsubstanz eingesetzt werden kann. Koffein ist als Genussmittel weit verbreitet und in normaler Dosierung nahezu frei von Nebenwirkungen. Es wird ebenfalls über das Enzym CYP 1A2 metabolisiert.



**Abbildung 7: Strukturformel von [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein (Hielscher Ultrasonics GmbH, 2015)**

#### **4.3.3 Nikotinaufnahme durch die Raucherprobanden**

Die Raucher-Probanden konsumierten i.d.R. täglich mindestens 15 Filterzigaretten. Die damit aufgenommene Nikotinmenge wurde den Angaben auf den Zigarettencpackungen entnommen, die Zigarettensmarken und die Anzahl tatsächlich gerauchter Zigaretten wurden in der Testphase protokolliert.



Selbst gedrehte Zigaretten enthalten im Durchschnitt ca. 0,8-1,4 mg Nikotin pro Zigarette und entsprechen somit der Nikotinmenge von Filterzigaretten.

**Tabelle 3: Zigarettenkonsum der Raucher**

Nr.	Zigarettenmarke/ enthaltene Nikotinmenge bei Inhalation einer Zigarette	Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag während des 13-tägigen Testes	Gesamtnikotinmenge in [mg/d]
1	Pueblo/ 1,1 mg	15	16,5
2	Cross Road blau/ 1,3 mg	15	19,5
3	Pall mall/ 0,9 mg	15	13,5
4	Pall mall/ 0,9 mg	20	18,0
5	Pall mall blue/ 0,5 mg	20	10,0

## 4.4 Versuchsdurchführung

### 4.4.1 Dauer und Ablauf der Testreihen

Aus oben genannten Gründen (Kapitel 4.1.3 Anzahl und individuelle Daten der Probanden) unterschied sich die Versuchsdauer für die Nichtraucher (NR) und Raucher (R). Die NR-Gruppe absolvierte die Testreihe an insgesamt 21 Tagen, wohingegen die R eine Testdauer von 13 Tagen durchliefen.

Der Ablauf der Versuche wurde wie folgt für die jeweiligen Gruppen gestaltet:

#### 4.4.1.1 Versuchsablauf mit Nichtraucherprobanden

Die NR begannen am ersten Tag mit dem Verzicht auf jegliche Arten von koffeinhaltigen Getränken, dazu zählten alle Zubereitungsarten von Kaffee und Kaffee ähnlichen Getränken, Cola und Cola ähnlichen Getränken, Tee und Energydrinks (Abb. 8). Nach 7 Tagen Koffeinabstinenz (KA) erfolgten die ersten  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests. Sechs Probanden begannen mit  $^{13}\text{C}$ -Coff (C) und 6 Probanden mit  $^{13}\text{C}$ -Ampy (A). Die Probanden wurden nicht darüber informiert, mit welchem Tracer sie die Atemgastests begannen. In den darauf folgenden 7 Tagen mussten alle NR weiter auf einen Koffeinkonsum (KK) verzichten, um im cross-over-Verfahren am 14. Testtag erneut einen Atemgastest mit dem jeweils anderen Tracer durchzuführen. Nach einem zweiwöchigen Koffeinverzicht begann für die NR der zweite Abschnitt der Testreihe. Über einen Zeitraum von weiteren 7 Tagen nahmen die Probanden eine durchschnittliche tägliche Kaffeemenge von 6 Tassen Kaffee zu sich.

Am 7. „Kaffeetag“ und somit 21. Tag des Testdurchlaufes, erfolgte der dritte Atemgastest mit dem Tracer  $^{13}\text{C}$ -Coff.

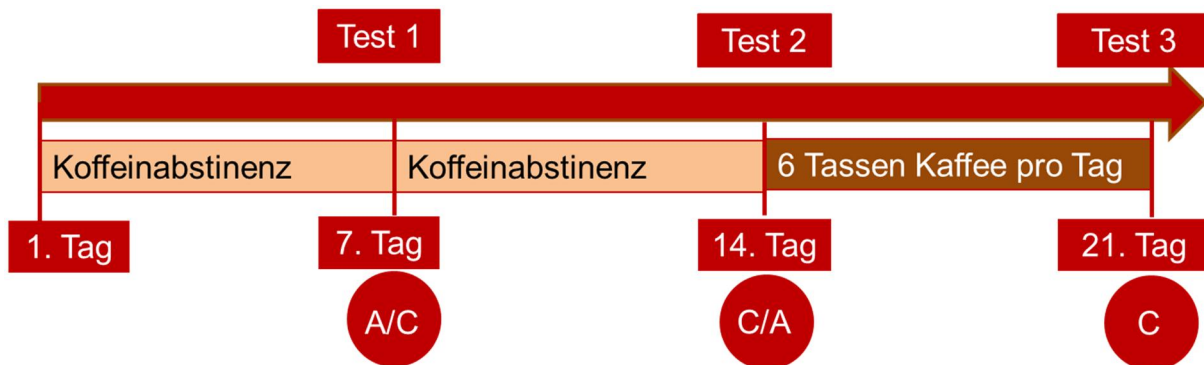


Abbildung 8: Schema der Testreihe der Nichtraucher

#### 4.4.1.2 Versuchsablauf mit Raucherprobanden

Die Gruppe der R begann am ersten Tag mit der KA, führte jedoch bereits am 3. Tag den ersten  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastest durch (Abb. 9). Drei R begannen mit dem Tracer  $^{13}\text{C}$ -Coff und 2 R mit  $^{13}\text{C}$ -Ampy. Nach weiteren 3 Tagen, dem 6. Testtag der R, wurde der entsprechende cross-over-Test mit der zweiten Tracersubstanz absolviert, so dass nach insgesamt 6-tägiger KA die erste Phase der Testreihe abgeschlossen war. Anschließend folgte für die R die Phase des 7-tägigen KK von 6 Tassen Kaffee am Tag. Auch in dieser Gruppe folgte am 7. Kaffee-Tag der letzte Test mit dem Tracer  $^{13}\text{C}$ -Coff, dies war für die R der 13. Testtag.

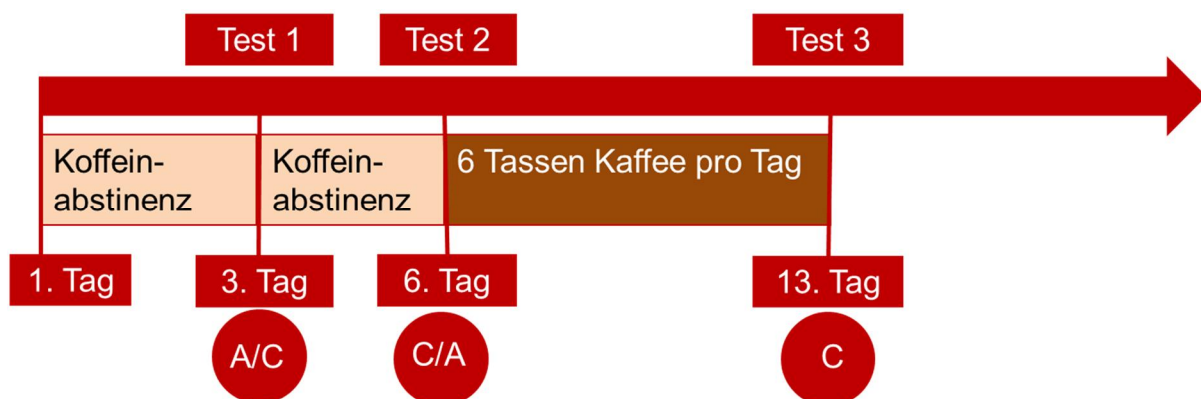


Abbildung 9: Schema der Testreihe der Raucher

#### **4.4.2 Mahlzeiten**

##### **4.4.2.1 Frühstück**

Das Frühstück erfolgte nach Menge, Zeitpunkt und Ablauf standardisiert nach Wetzel und Fischer (2001), da mit dieser Mahlzeit die Tracersubstanzen eingenommen wurden. Das Frühstück setzte sich wie folgt zusammen: Ein halbes Brötchen mit Butter und mit handelsüblicher Salami belegt, ein halbes Brötchen mit Butter und handelsüblicher Marmelade sowie ein Glas 0,3 l Apfelsaft. Am letzten Testtag kamen die etwa 2 Tassen Kaffee hinzu.

Das halbe Marmeladenbrötchen wurde als Träger für die Tracersubstanzen präpariert, da die Konsistenz der Marmelade deren Anhaftung garantierte.

##### **4.4.2.2 Mittagessen**

An den Tagen des  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Testes erhielten die Probanden zum Mittagessen Spaghetti mit selbst zubereiteter Sauce Bolognese. An den Testtagen, an denen  $^{13}\text{C}$ -Coff verabreicht wurde und an denen die Probanden sich noch in der KA-Phase befanden, erhielten alle Teilnehmer zum Mittagessen Kartoffeln mit Rahmspinat und Rührei. Am letzten Testtag, an dem alle Probanden Kaffee tranken und den Tracer  $^{13}\text{C}$ -Coff zu sich nahmen, setzte sich das Mittagessen aus Kartoffeln, Sauce Hollandaise, Brokkoli und Cordon Bleu zusammen. Die Probanden konnten zwischen unterschiedlichen Getränken wählen. Ausgenommen waren jedoch alkoholische und koffeinhaltige Getränke. Am letzten Testtag tranken alle Probanden zu ihren Mahlzeiten die entsprechende Menge Kaffee.

#### **4.4.3 Tracereinnahme**

Die Tracereinnahme erfolgte bei allen Probanden an allen Testtagen um 8:00 Uhr mit den vorbereiteten Brötchen. Das mit der Tracersubstanz präparierte Brötchenstück wurde kurz gekaut und geschluckt. Das Gefäß, in dem die Tracersubstanz vor dem Auftragen auf die Brötchen eingewogen wurde, wurde mit ein wenig Apfelsaft ausgespült und von den Probanden getrunken, damit sichergestellt werden konnte, dass die Probanden die für sie bestimmte Menge des Tracers vollständig eingenommen haben. Den Probanden war es erlaubt, wegen des „staubigen“ und leicht bitteren Geschmacks sowohl von  $^{13}\text{C}$ -Coff als auch von  $^{13}\text{C}$ -Ampy etwas von dem bereitgestellten Apfelsaft nachzutrinken, um das Präparat besser schlucken zu können.

#### **4.4.4 Ablauf eines Testtages**

Für alle Probanden begann jeder Testtag um 7:45 Uhr mit der Abgabe des Leerwertes des  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemtestes. Anschließend wurde das vorbereitete Frühstück in Ruhe eingenommen. Das Frühstück dauerte in der Regel 10 min, so dass um 8:15 Uhr die erste Atemgasabgabe mit Beatmung der Aluminiumbeutel erfolgte. Bis einschließlich 10:00 Uhr wurde alle 15 min mit derselben Ausatemtechnik die Atemgasabgabe wiederholt, danach in Abständen von 30 min. Gegen 12:30 Uhr gab es für alle Probanden das dem Studiendesign angepasste Mittagessen. Die Testtage endeten um 16:00 Uhr. Insgesamt wurden somit 21 Atemgasproben je Proband in Aluminiumbeuteln abgefüllt und für die Analytik aufbereitet. Der Verlauf der Testtage wurde handschriftlich protokolliert.

##### ***4.4.4.1 Regeln für den Tagesablauf der Probanden-Gruppen***

Alle Testtage sollten von den Probanden alltagsähnlich gestaltet werden. Im Testzeitraum durften sich die Probanden zwischen 7:45 Uhr und 16:00 Uhr nicht sportlich betätigen. Eine ruhende Position war jedoch nicht vorgeschrieben. Da einige Probanden berufstätig waren, gewannen sie die Proben selbstständig während ihres Arbeitsalltages. Es wurde jedoch darauf geachtet, dass die Arbeit nicht mit ausgeprägter oder übermäßiger körperlicher Erschöpfung einherging.

#### **4.4.5 Probenahme und Aufbewahrung der Proben**

Nach einer tiefen Inspiration wurde der Atem von den Probanden etwa 3-5 Sekunden angehalten und anschließend mit einem kurzen Atemstoß über ein rohrförmiges Mundstück in nummerierte Aluminiumbeutel (Volumen 300 ml) ausgeatmet. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Beutel nicht zu prall befüllt wurden. Direkt nach der Probennahme wurden die Aluminiumbeutel mit Stöpseln luftdicht verschlossen und so aufbewahrt, dass die Analytik zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt werden konnte.

Von jedem Teilnehmer wurde zu Beginn des Testdurchlaufs, genau 15 min vor Tracereinnahme, eine Leerwertprobe genommen, also eine Beatmung des Aluminiumbeutels „0“ durchgeführt. Dies ermöglichte die Ermittlung der endogenen, natürlichen, expiratorischen  $^{13}\text{CO}_2$ -Konzentration eines jeden Probanden. (Wetzel und Fischer, 2001)

## 4.5 Messmethode

### 4.5.1 Infrarotspektroskopie-Analysator

Die isotopenselektive nicht dispersive Infrarotspektroskopie (NDIR) nutzt die charakteristischen Frequenzen der Absorption von der Strahlung der Strukturelemente zur quantitativen Bestimmung von Konzentrationen in Gasen. Da von  $^{12}\text{CO}_2$  und  $^{13}\text{CO}_2$  unterschiedliche Absorptionsspektren aufgezeichnet werden, ist das NDIR-Verfahren zur quantitativen Messung im Atemgas geeignet. Die Auflösung der Spektren liegt bei 0,3 ‰. (Brösicke, 1987, Braden et al., 1999)

Das  $^{12}\text{CO}_2/^{13}\text{CO}_2$ -Isotopenverhältnis in der Atemluft der Probanden wurde isotopenselektiv mit einem Infrarotspektroskopie-Analysator (FANci2, Firma Fischer ANALYSEN Instrumente GmbH, Leipzig) des Forschungslabors der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin Rostock gemessen.

## 4.6 Statistische Berechnungen

Für die statistische Auswertung der Daten wurden die „Delta over Baseline“-Werte (DOB-Werte) und die kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalationen nach den Gleichungen von Brösicke et al. (1987) und Radke et al. (1995) berechnet. (Brösicke, 1987, Radke et al., 1995)

### 4.6.1 Delta over Baseline (DOB)

Die  $^{13}\text{C}$ -Konzentrationen aus der Leerwert-Probe, wurden als Baseline festgelegt. Der „DOB“-Wert eines bestimmten Zeitpunktes ( $t_i$ ) wurde aus der Differenz der Baseline ( $\delta^{13}\text{C}_{t_0}$ ) und der zu diesem Zeitpunkt ( $t_i$ ) gemessenen  $^{13}\text{C}$ -Konzentration ( $\delta^{13}\text{C}_{t_i}$ ) ermittelt. (Renaud et al., 1995)

Formel zur Berechnung der DOB:

$$\Delta\delta^{13}\text{C}_{t_i} = \delta^{13}\text{C}_{t_i} - \delta^{13}\text{C}_{t_0}$$

### 4.6.2 Kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalationen

In die Berechnung der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation gehen die  $^{13}\text{C}$ -Dosis und die  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -Werte ein. Diese  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -Werte werden aus den DOB-Werten berechnet.

#### 4.6.3 Berechnung der Tracer-Dosis

Die Dosis des Tracers wird mit folgender Formel nach (Wang et al., 2005) berechnet:

$$Dosis (D) = \frac{m \times A \times n}{100 \times MG} \quad \frac{g}{kg \ g/mol} \quad \frac{mol}{kg}$$

m = Menge des eingesetzten Tracer

A =  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit des Tracer in Atom%

MG = Molekulargewicht des markierten Tracer

n = Anzahl der  $^{13}\text{C}$ -markierten C-Atome

#### 4.6.4 Berechnung des $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -Wertes

Um den  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}$ -Wert zu ermitteln, werden  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{t_{i-1}}$  und der  $\Delta\delta^{13}\text{C}_{t_i}$  kumulativ addiert.

Der  $\Delta\delta_{t_i}$  wird nach folgender Formel berechnet (Brösicke, 1987, Radke et al., 1995):

$$\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}} = \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} (\Delta\delta^{13}\text{C}_{t_{i-1}} + \Delta\delta^{13}\text{C}_{t_i}) \times (t_i - t_{i-1})$$

#### 4.6.5 Berechnung der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalationen

Die kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalationen (KPEx) werden mit folgender Formel nach (Renaud et al., 1995) berechnet:

$$\text{KPEx} = \frac{\text{PDB} \times \text{KO} \times \text{Endo CO}_2 \times \Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{kum}}}{D \times 10} \quad \frac{\text{m}^2 \text{ mol } [\text{m}^2 \text{ h}]^{-1}}{\text{g mol g}^{-1}} \quad \text{h}$$

PEx = Prozentuale Exhalation

$(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Std}}$  = Isotopenverhältnis von  $^{13}\text{CO}_2$  Standardgas

Pee Dee Belemnite (PDB) = 0,0112372

KO = Körperoberfläche [ $\text{m}^2$ ]

Endo  $\text{CO}_2$  = Endogene  $\text{CO}_2$ -Produktion  $0,3 \text{ mol} \times [\text{m}^2 \times \text{h}]^{-1}$

D = Dosis des eingesetzten Tracer

#### 4.6.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung und Darstellung in Grafiken erfolgte mit der Software Microsoft Office Excel 2010. Die Auswertung umfasst die statistische Beschreibung mit den Parametern Mittelwert, Standardabweichung, Minimum und Maximum, Korre-

lation und Bestimmtheitsmaß sowie Mittelwertvergleiche mit dem Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen mit  $P(T \leq t)$  zweiseitig.

#### **4.6.6.1 Berechnung und Auswertung der DOB-Werte**

Um die Metabolisierungsgeschwindigkeit des  $^{13}\text{C}$ -markierten Kohlenstoffs bestimmen zu können, wurde von jedem Probanden 15 min vor Einnahme des Tracers der Leerwert der Atemluft ermittelt. Dieser Leerwert entspricht der natürlichen  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und wird von den Brutto-Testwerten abgezogen. In den Grafiken wird somit der Nettowert der Verstoffwechselung dargestellt, die im Kurvenverlauf über den Testtag die Metabolisierungsgeschwindigkeit charakterisiert.

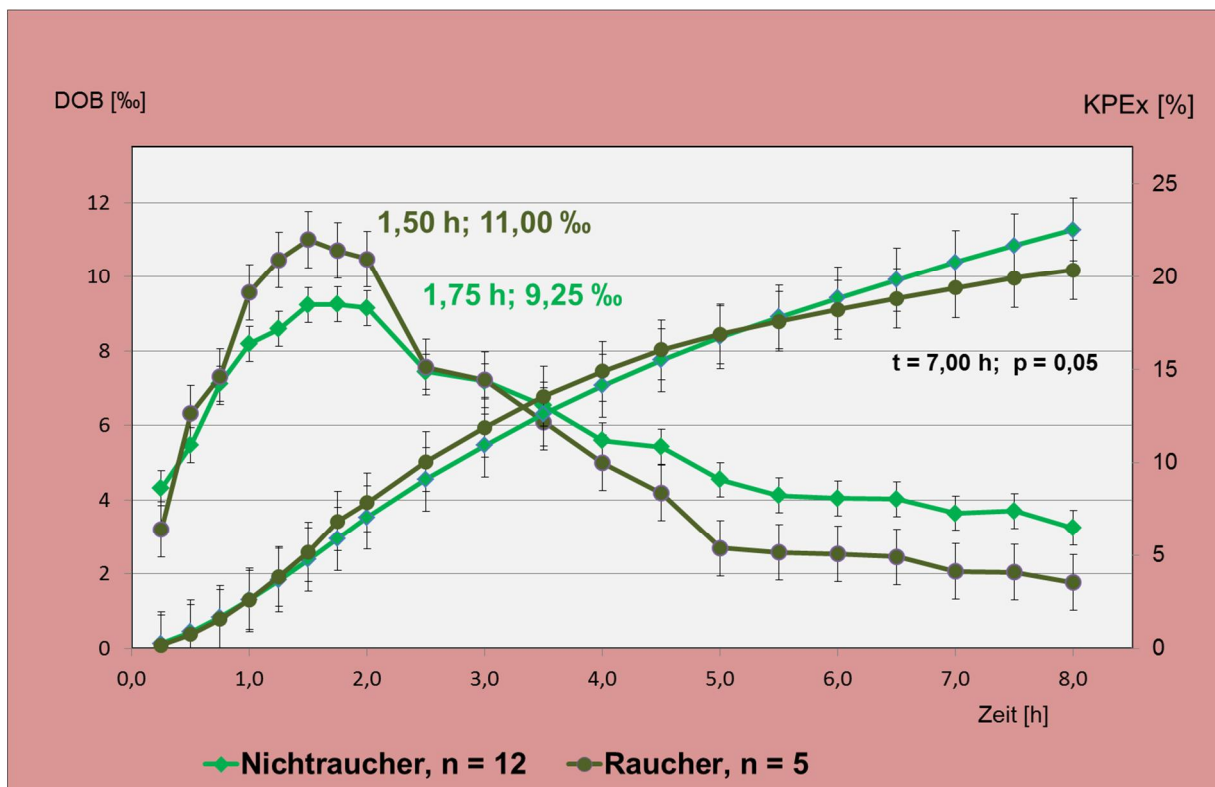
#### **4.6.6.2 Berechnung und Auswertung der $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation**

Die Intensität der Entgiftungsfunktion der Leber wird als Anteil des abgeatmeten  $^{13}\text{C}$  im Verhältnis zum aufgenommenen  $^{13}\text{C}$  zu den Messzeitpunkten dargestellt. Zum Zeitpunkt der maximalen KPEx kann von einer nahezu abgeschlossenen Resorption des Tracers ausgegangen werden.

## 5 Darstellung der Ergebnisse

### 5.1 $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin- und $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Gabe bei Rauchern und Nichtrauchern unter Koffeinabstinenz

Die Abbildungen 10 und 11 zeigen den Verlauf der Mittelwerte der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten (DOB) und der KPEx in der Atemluft nach der Tracereinnahme von Rauchern (R) und Nichtrauchern (NR) über einen Testzeitraum von 8 h. Die Testergebnisse wurden unter KA ermittelt.



**Abbildung 10: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher und Raucher nach  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz**

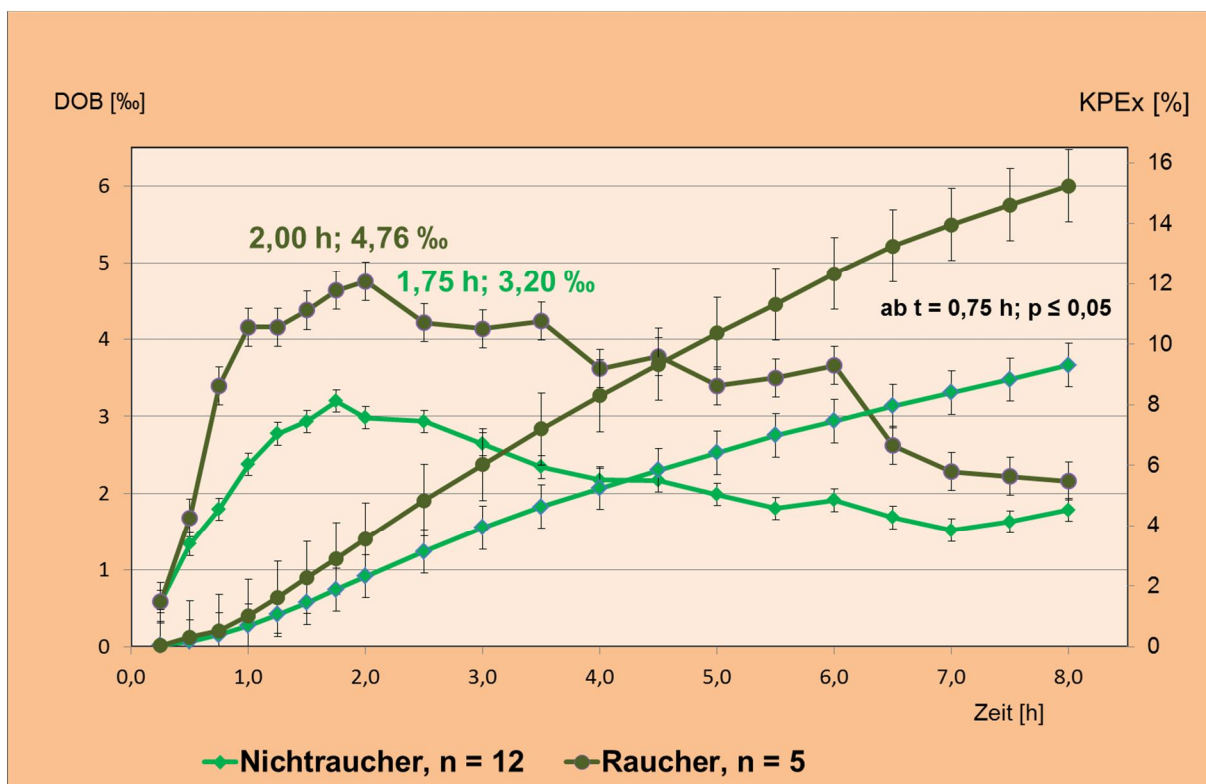
Die Graphen in Abbildung 10 zeigen einen steilen Anstieg der DOB-Werte direkt nach der Einnahme des Tracers  $^{13}\text{C}$ -Ampy vom Zeitpunkt 0 bis ca. 2 h. Die DOB-Maxima beider Probandengruppen werden im AAT zum Zeitpunkt  $t = 1,50$  bis 1,75 h erreicht.

Unter KA liegt der Peak des DOB-Wertes der R nach  $t = 1,50$  h bei 11,00 % und damit 1,75 % über dem Peak der NR (Abb. 10).



Der Anstieg der KPEx-Werte erfolgt in den ersten 75 min nach Einnahme des Tracers noch etwas zögerlich, danach kommt es zu einer leicht erhöhten Exhalation der R im Vergleich zu den NR. Zwischen  $t = 5,00$  und  $5,50$  h nach Testbeginn schneiden sich die Kurven, da die Werte der R jetzt langsamer zunehmen als die der NR. Der mittlere Endwert der NR liegt bei 22,56 %, während die R im Durchschnitt 20,36 % erreichen (Tab, A2). Ab dem Zeitpunkt  $t = 7,00$  h sind die Differenzen mit  $p = 0,05$  signifikant.

In Abbildung 11 werden die DOB-Werte des CAT im Testtagesverlauf bei KA dargestellt. Bis zum Zeitpunkt  $t = 1,75$  h (NR) und  $t = 2,00$  h (R) nach Testbeginn steigen die DOB-Mittelwerte an, bleiben jedoch deutlich unter den DOB-Mittelwerten nach  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe. Die NR erreichen Peaks von 3,20 ‰ und liegen damit 1,56 ‰ unter den R (Tab. A1). Statistisch ergibt sich hier eine Signifikanz von  $p = 0,0001$ . Zwischen den Mittelwerten der KPEx der NR und R besteht über den gesamten Verlauf eine signifikante Differenz ( $p \leq 0,05$ ), die von 0,19 % zu Beginn des Testtages auf 1,07 % nach 1,25 h ansteigt und bis zum Testende nach 8 h zwischen 0,77 % und 0,25 % schwankt.



**Abbildung 11: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher und Raucher nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz**

## 5.2 $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Gabe bei Rauchern und Nichtrauchern unter Koffeinkonsum

Abbildung 12 zeigt die Testergebnisse nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe von NR und R, die nach KK gemessen wurden. Neben den DOB-Mittelwerten sind deren Maximalwerte sowie der Zeitpunkt, an dem diese Spitzenwerte erreicht werden, ausgewiesen. Unter KK steigen die DOB-Werte der R nach Testbeginn schneller an und erreichen nach  $t = 2,00$  h einen Maximalwert von  $3,56 \text{ ‰}$  (Tab. A1). Der Peak der NR wird erst nach  $t = 2,50$  h erreicht und liegt mit  $2,82 \text{ ‰}$  etwas unter dem der R zu diesem Zeitpunkt. Die Differenzen sind mit  $p = 0,05$  statistisch signifikant.

Die KPEx nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe der NR und R gleichen sich in ihrem Verlauf. Sie haben zunächst einen leicht zögerlichen Anstieg bis zum Zeitpunkt  $t = 1,50$  h und zeigen danach einen nahezu linearen Verlauf mit  $R^2 = 1,0$ . Unter KK erreichen die NR eine max. KPEx von  $10,13 \text{ ‰}$  (Tab. A2) und liegen über die gesamte Messzeit unter den Werten der R. Beginnend mit dem Testzeitpunkt  $t = 5,00$  h sind die Differenzen mit  $p = 0,05$  signifikant.

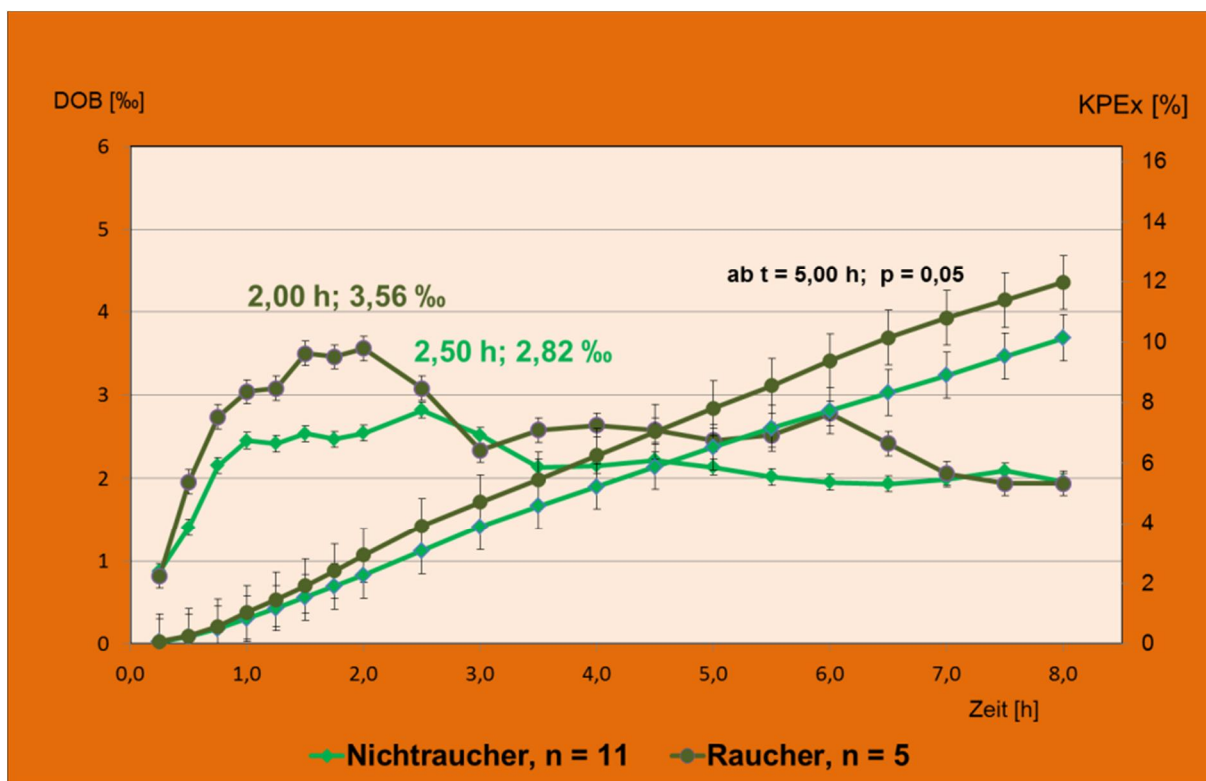


Abbildung 12: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher und Raucher nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum

### **5.3 $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Gabe vor und nach Koffeinkonsum bei Nichtrauchern und Rauchern**

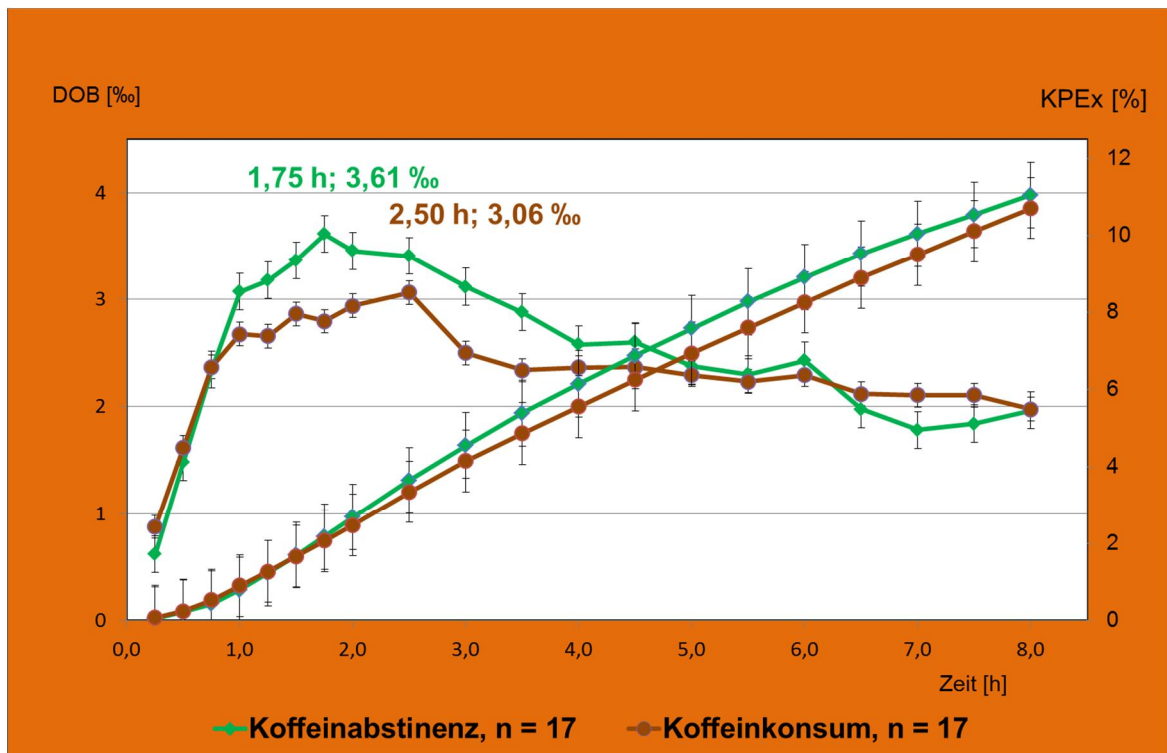
Die Abbildungen 13 bis 15 zeigen den Kurvenverlauf der DOB-Mittelwerte und der KPEX der Atemluft nach Einnahme des Tracers  $^{13}\text{C}$ -Coff aller Probanden, der NR und R über einen Testzeitraum von 8 h. Die abgebildeten Testergebnisse wurden jeweils unter KA und KK ermittelt.

Die Graphen aller Probanden und der NR unterscheiden sich nur geringfügig voneinander. Der Peak der NR unter KA wird zum Zeitpunkt  $t = 1,75$  h erreicht und beträgt  $\text{DOB} = 3,18 \text{ ‰}$  (Tab. A1). Unter KK wird dieser Peak erst zum Zeitpunkt  $t = 2,50$  h ausgewiesen und fällt mit  $\text{DOB} = 3,05 \text{ ‰}$  etwas geringer aus. (Abb.14)

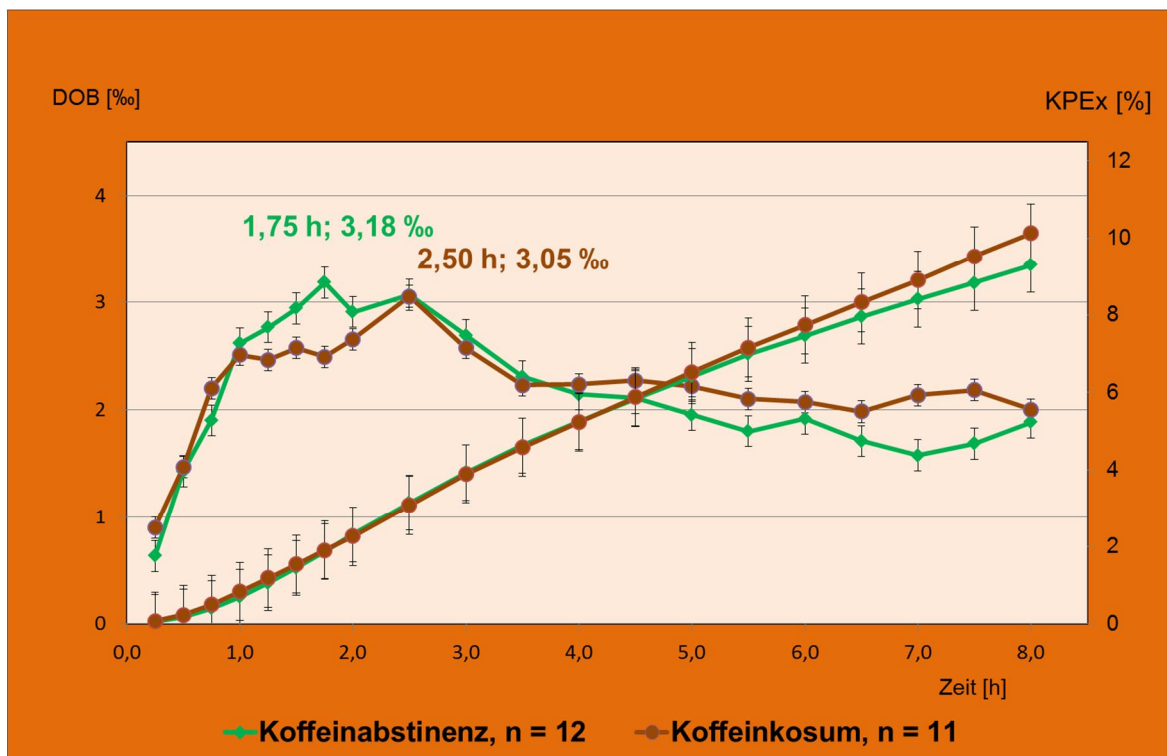
Abbildung 15 zeigt einen steilen Anstieg der DOB-Mittelwerte der R unter KK und KA. Beide Graphen erreichen den Peak zum selben Zeitpunkt ( $t = 2,00$  h), allerdings ist der maximale Mittelwert unter KA bei R mit  $4,76 \text{ ‰}$  um  $1,2 \text{ ‰}$  signifikant ( $p = 0,009$ ) höher als bei KK.

Die Abbildungen 13 und 14 aller Probanden und der NR zeigen nahezu identische Graphen der KPEX unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz im Anstieg, jedoch nicht im Verlauf zueinander. Zum Zeitpunkt  $t = 2,00$  h dividieren die Graphen aller Probanden leicht auseinander, dabei sind die Werte unter KA stets höher als die unter KK. Dagegen sind die der NR bis zum Zeitpunkt  $t = 5,50$  h nahezu identisch, danach liegen die NR unter KK über denen unter KA.

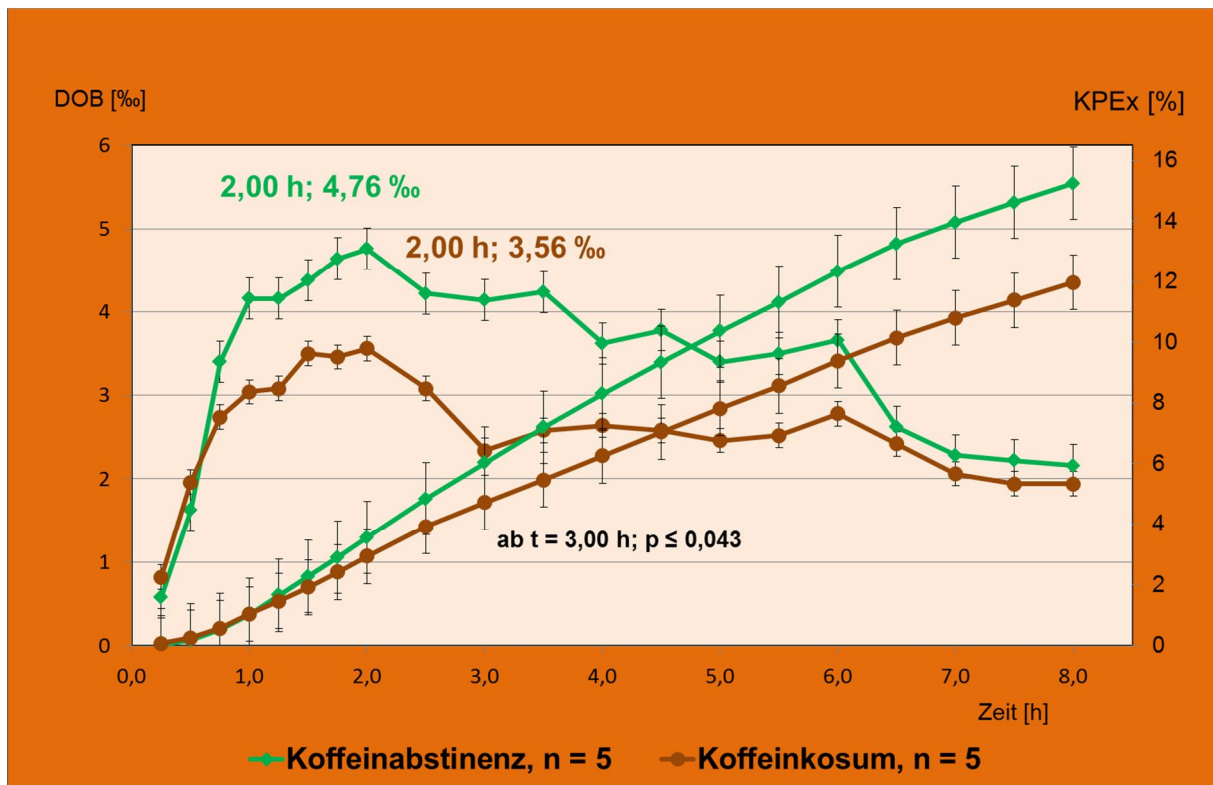
Zum Ende der Testreihe werden unter KK KPEX von  $10,71 \text{ ‰}$  (alle Probanden, Abb. 13, Tab. A2) bzw.  $10,13 \text{ ‰}$  (NR, Abb. 14, Tab. A2) erreicht. Die KPEX der R unterscheidet sich unter KK und KA im Anstieg und resultiert zum Ende der Testreihe in Maximalwerten von  $11,98 \text{ ‰}$  unter KK und  $15,24 \text{ ‰}$  bei KA. Die Differenz ist signifikant ab dem Testzeitpunkt  $t = 3,00$  h mit  $p \leq 0,043$  (R, Abb. 15, Tab. A2).



**Abbildung 13: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation aller Probanden nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz**



**Abbildung 14: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz**



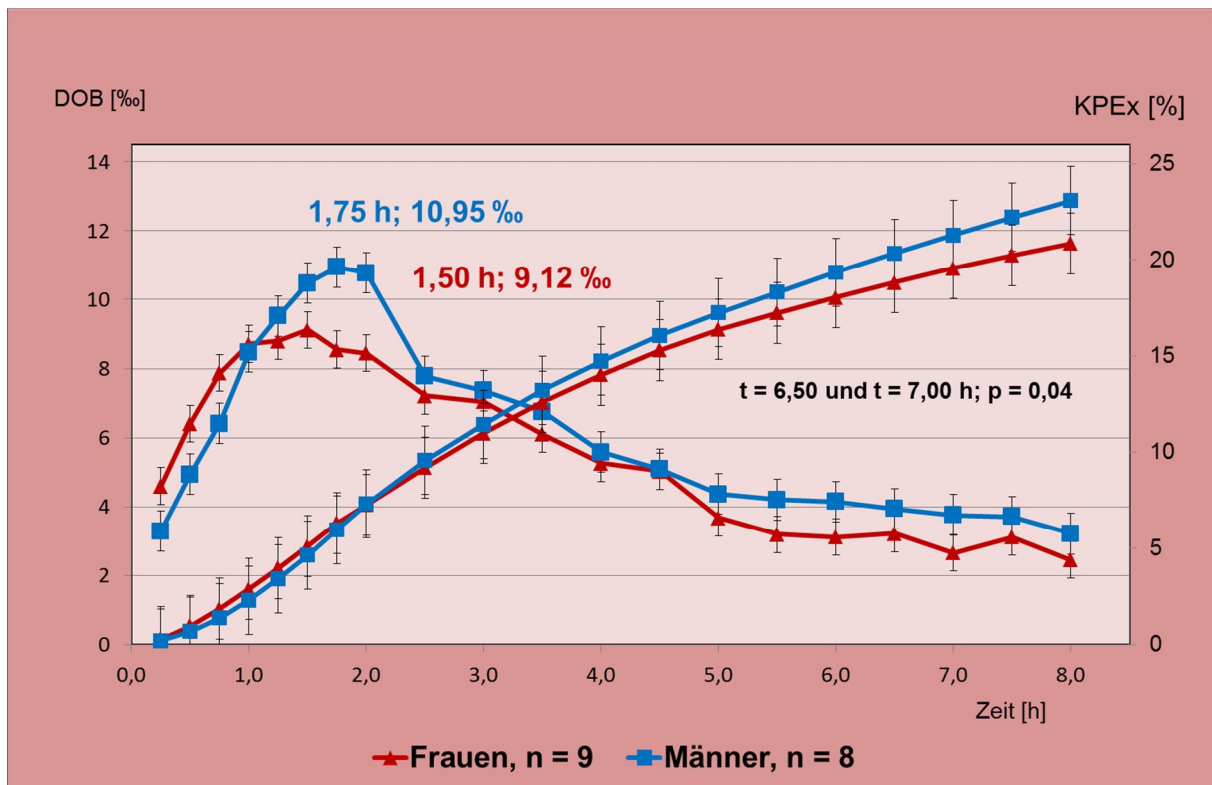
**Abbildung 15: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Raucher-Probanden nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz**

#### 5.4 $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin-Gabe bei Frauen und Männern unter Koffeinabstinenz

Nach  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe reagieren Frauen (F) und Männer (M) unterschiedlich, was an den DOB-Mittelwerten und der KPEx zu sehen ist (Abb. 16).

Von den F wird zum Zeitpunkt  $t = 0,75$  h bei den DOB-Mittelwerte das Niveau ca. 8 ‰ erreicht und über  $t = 1,25$  h annähernd gehalten (Abb. 16). Der Peak liegt bei 9,12 ‰ ( $t = 1,50$  h, Abb. A1). Der Abfall der DOB-Mittelwerte erfolgt bei den F fast linear bis auf einen Endwert von 2,44 ‰. Die Differenzen der KPEx zwischen F und M sind zu den Zeitpunkten  $t = 6,50$  und  $t = 7,00$  h signifikant ( $p = 0,04$ ).

Bei Nichtraucherinnen (NRF) ist nach der  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe der DOB-Anstieg nur mäßig beeinflusst (Abb. 17). Raucherinnen (RF) reagieren dagegen mit einem Peak, die DOB-Mittelwerte steigen bis zum Zeitpunkt  $t = 1,25$  h auf 11,63 ‰ im Vergleich zu 7,95 ‰ auf gleichbleibendem Niveau der NRF von  $t = 1,50$  bis  $t = 3,00$  h (7,25 ‰, Tab. A1).

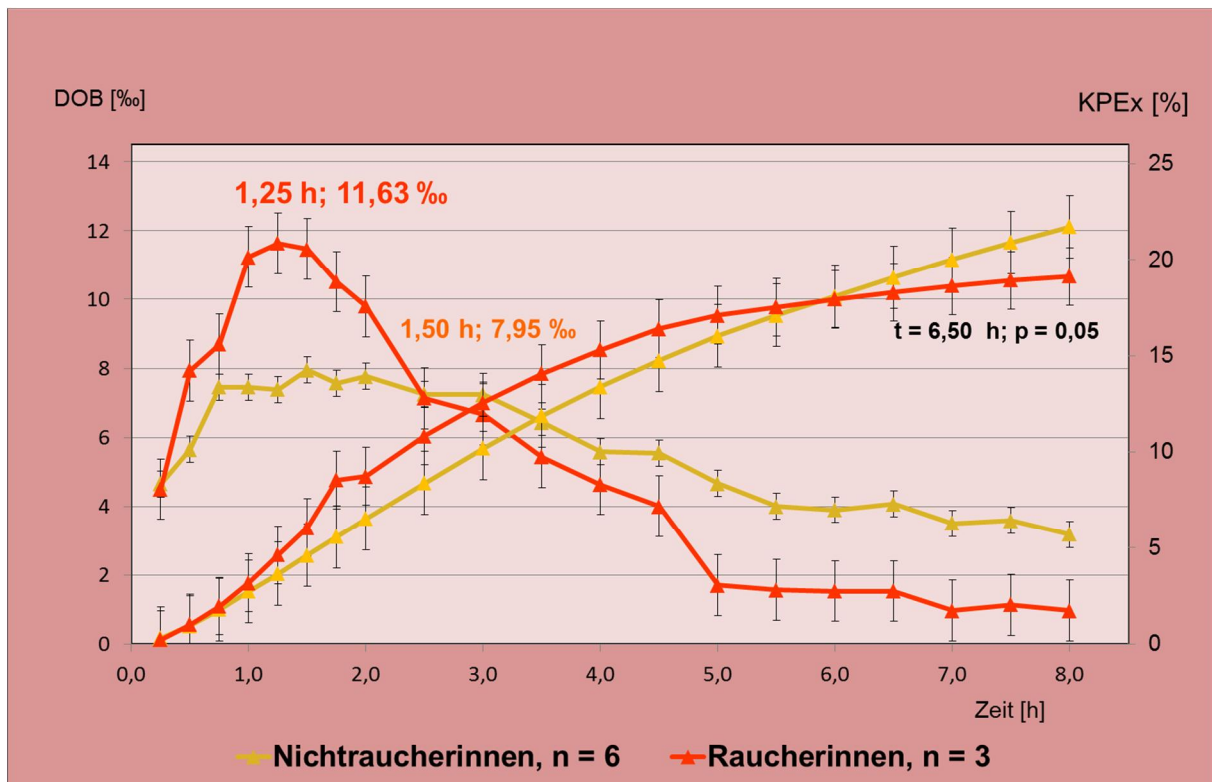


**Abbildung 16: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Frauen und Männern nach  $^{13}\text{C}$ -Amygala-Gabe unter Koffeinabstinenz**

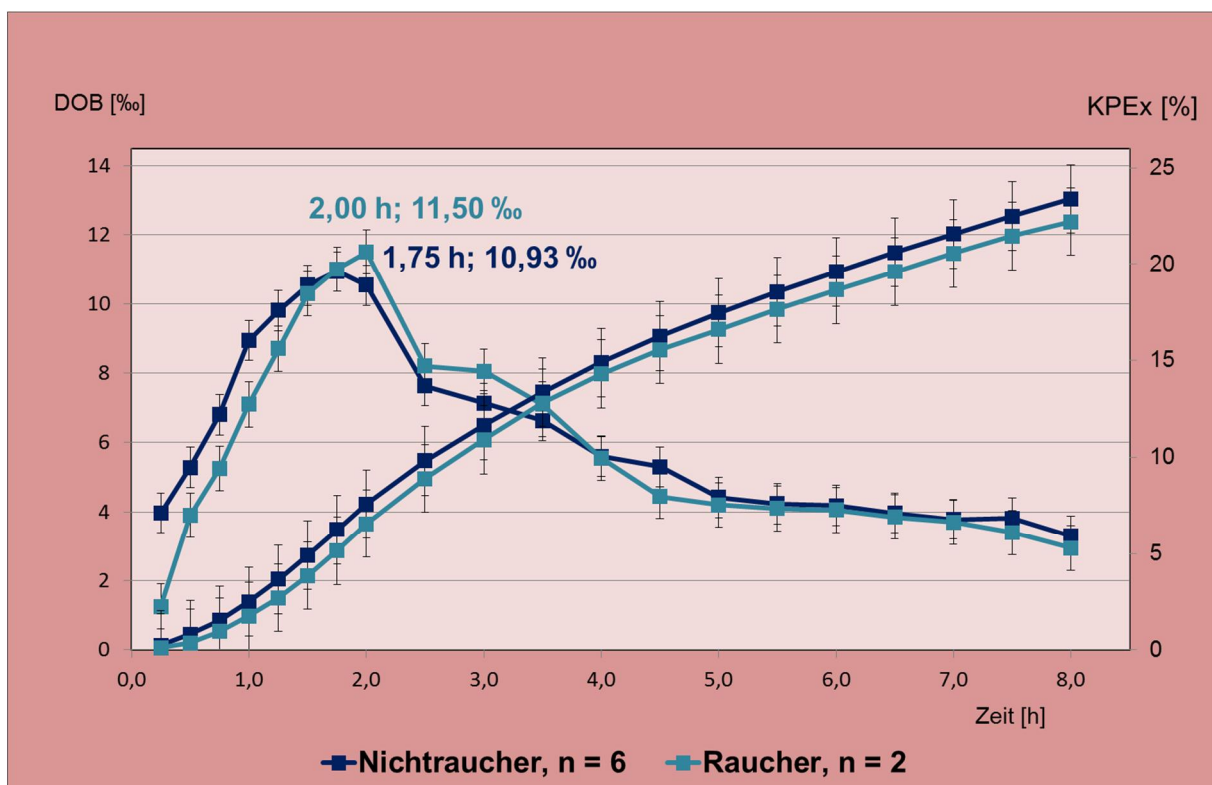
Nichtraucher (NRM) und Raucher (RM) zeigen in ihren DOB-Werten nahezu gleiche Reaktionen auf die  $^{13}\text{C}$ -Amygala-Gabe (Abb. 18, Tab. A1). Der Peak wird fast zeitgleich ( $t = 1,75$  bzw.  $2,00$  h) und in gleicher Höhe ( $10,93$  bzw.  $11,50$  ‰) erreicht.

Die KPEx unterstreichen die höhere Entgiftungskapazität der Leber von M nach  $^{13}\text{C}$ -Amygala-Gabe (Abb. 16, Tab. A2). Mit  $23,09$  % liegt der KPEx-Endwert der M um  $2,22$  % über dem der F. Kumulativ gibt es zwischen den KPEx der NRF und der RF einen Schnittpunkt  $t = 6$  h nach der Tracereinnahme (Abb. 17). Danach steigt der Graph der RF nicht mehr in dem Maße, wie der der NRF.

Da die Graphen der NRM und RM nach  $^{13}\text{C}$ -Amygala-Gabe annähernd gleich verlaufen, ist auch die Darstellung der KPEx hinsichtlich Anstieg und Streuung gleich (Abb. 18).



**Abbildung 17: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtraucherinnen und Raucherinnen nach  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz**



**Abbildung 18: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtrauchern und Rauchern nach  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz**



## **5.5 $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Gabe bei Frauen und Männern unter Koffeinabstinenz**

Unter KA reagieren F und M nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unterschiedlich, was im Kurvenverlauf der DOB-Mittelwerte zu sehen ist (Abb. 19). Bei ähnlicher Standardabweichung der Mittelwerte ( $F\ s = 3,30$ ;  $M\ s = 4,20$ , Tab. A1) verläuft die Kurve der M nahezu ausnahmslos über der der F. Die Differenzen betragen im Bereich der Peaks 1,15 bis 1,34 ‰ und danach 0,5 bis 0,98 ‰. Nur zu Beginn der Messreihen und nach  $t = 7,00\ \text{h}$  werden gleiche Mittelwerte ausgewiesen. Die Differenzen der DOB-Werte sind signifikant mit  $p = 0,02$  und der KPEX mit  $p = 0,03$  ab dem Zeitpunkt  $t = 3,00\ \text{h}$ .

Große Differenzen zeigen sich bei den DOB-Werten, die von NRF und RF nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe gemessen wurden (Abb. 20). Die Messwerte der NRF bleiben nach einem leichten Anstieg zu Beginn auf 1,98 ‰ auf diesem Niveau, der Peak liegt nach  $t = 2,50\ \text{h}$  bei 2,90 ‰. Nach  $t = 8,00\ \text{h}$  wird ein Mittelwert von 1,85 ‰ erreicht. Der Anstieg der RF ist steiler, nach  $t = 1,75\ \text{h}$  zeigt der Graph einen Peak von 4,40 ‰ und bleibt 25 min auf diesem Niveau, nach weiteren 25 min ist ein Abfall auf 3,4 ‰ zu verzeichnen. Die DOB-Werte unterscheiden sich mit  $p = 0,0003$  signifikant.

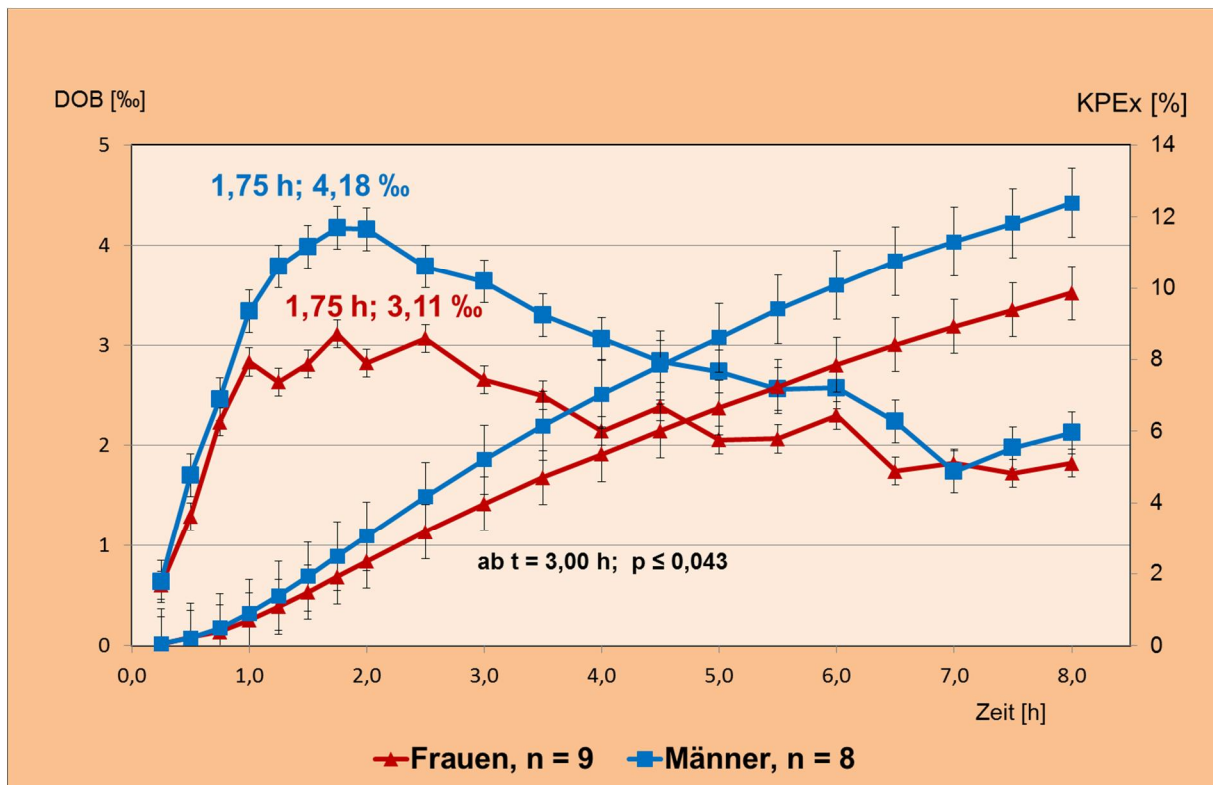
RM reagieren intensiver auf die  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe als NRM (Abb. 21). Der Anstieg der Exhalationswerte ist steiler, der Peak nach  $t = 2,50\ \text{h}$  höher als der der NRM (5,45 ‰ (RM) vs. 3,90 ‰ nach  $t = 1,75\ \text{h}$  (NRM)). Beide Graphen sinken gleichmäßig ab, die Endwerte liegen bei 1,92 ‰ (NRM) bzw. 2,75 ‰ (RM). Auch diese Differenzen sind signifikant mit  $p = 0,0001$ .

Die Diagramme der KPEX von F und M (Abb. 19) weisen nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe bei M im Vergleich zu F sowie R gegenüber NR auf eine höhere Leberentgiftungskapazität hin. Zwischen M und F beträgt die Differenz der KPEX nach  $t = 8,00\ \text{h}$  2,40 %.

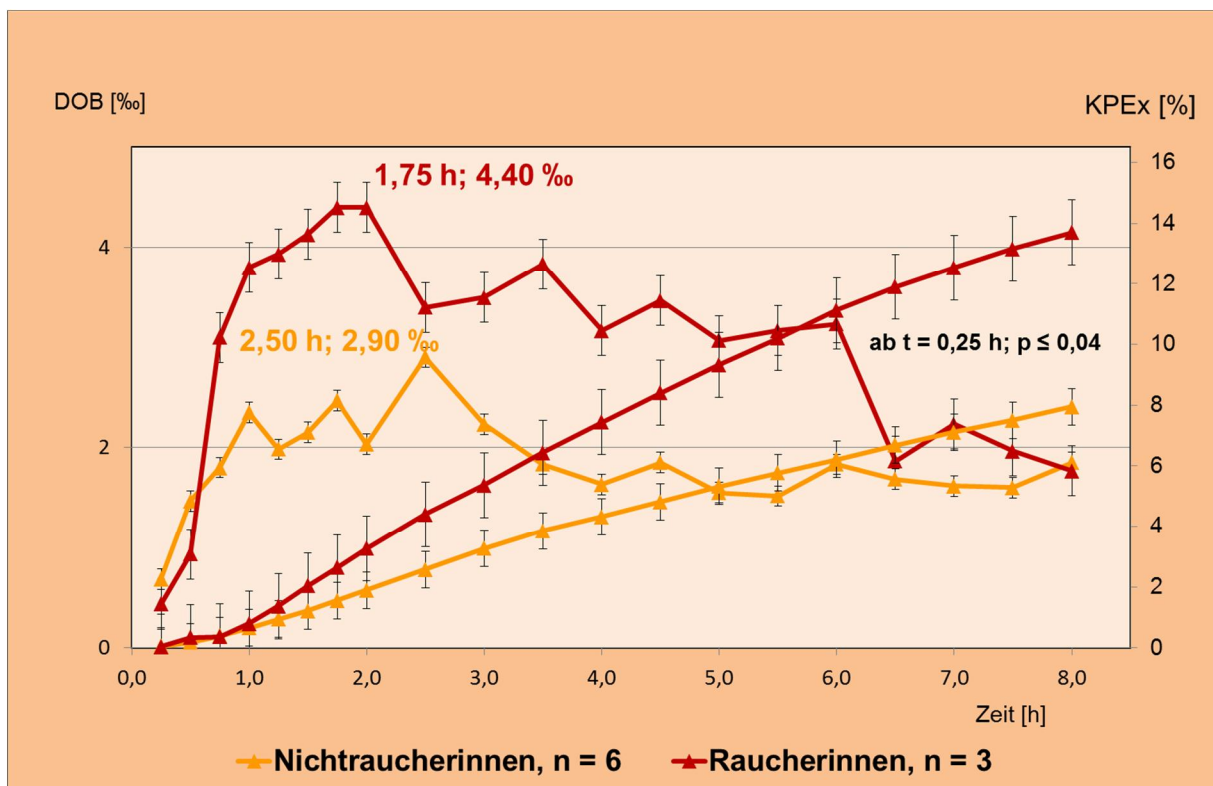
Die KPEX der RF steigt signifikant stärker an als die der NRF ( $p < 0,04$ ). Die Maximalwerte liegen bei 13,70 vs. 7,94 % (Abb. 20, Tab. A2).

Diese KPEX der RM differieren noch deutlicher (ab  $t = 0,75\ \text{h}$  mit  $p < 0,05$ ). (Abb 21, Tab. A2). Die RM liegen im Endwert 6,88 Prozentpunkte über den NRM.

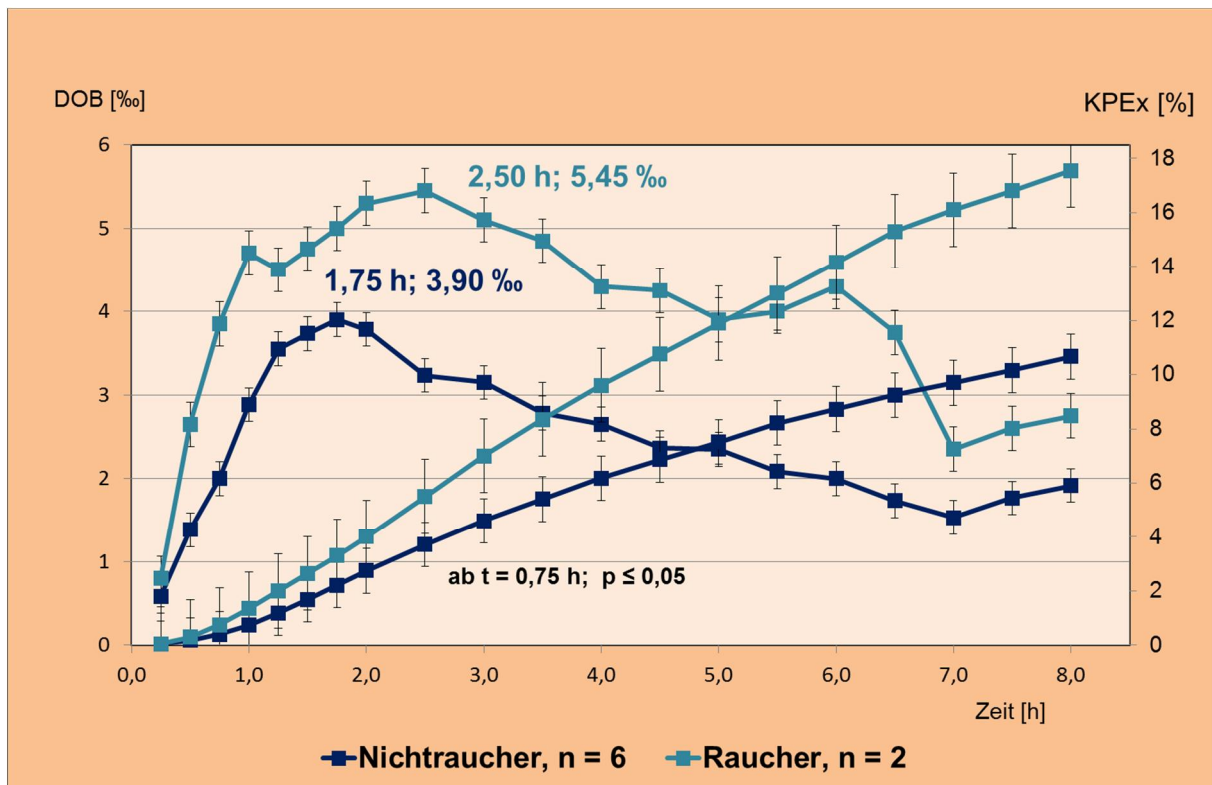




**Abbildung 19: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Frauen und Männern nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz**



**Abbildung 20: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtraucherinnen und Raucherinnen nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz**



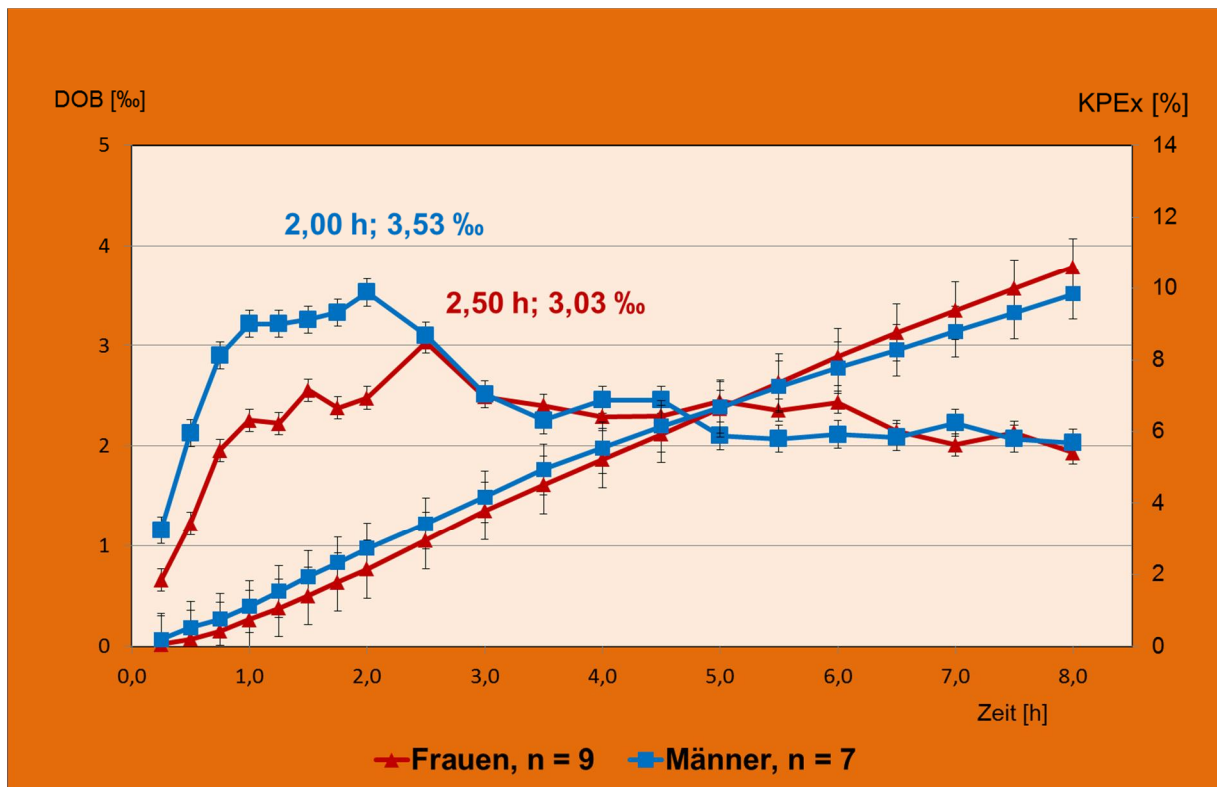
**Abbildung 21: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtrauchern und Rauchern nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz**

## 5.6 $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und kumulative prozentuale Exhalation nach $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Gabe bei Frauen und Männern unter Koffeinkonsum

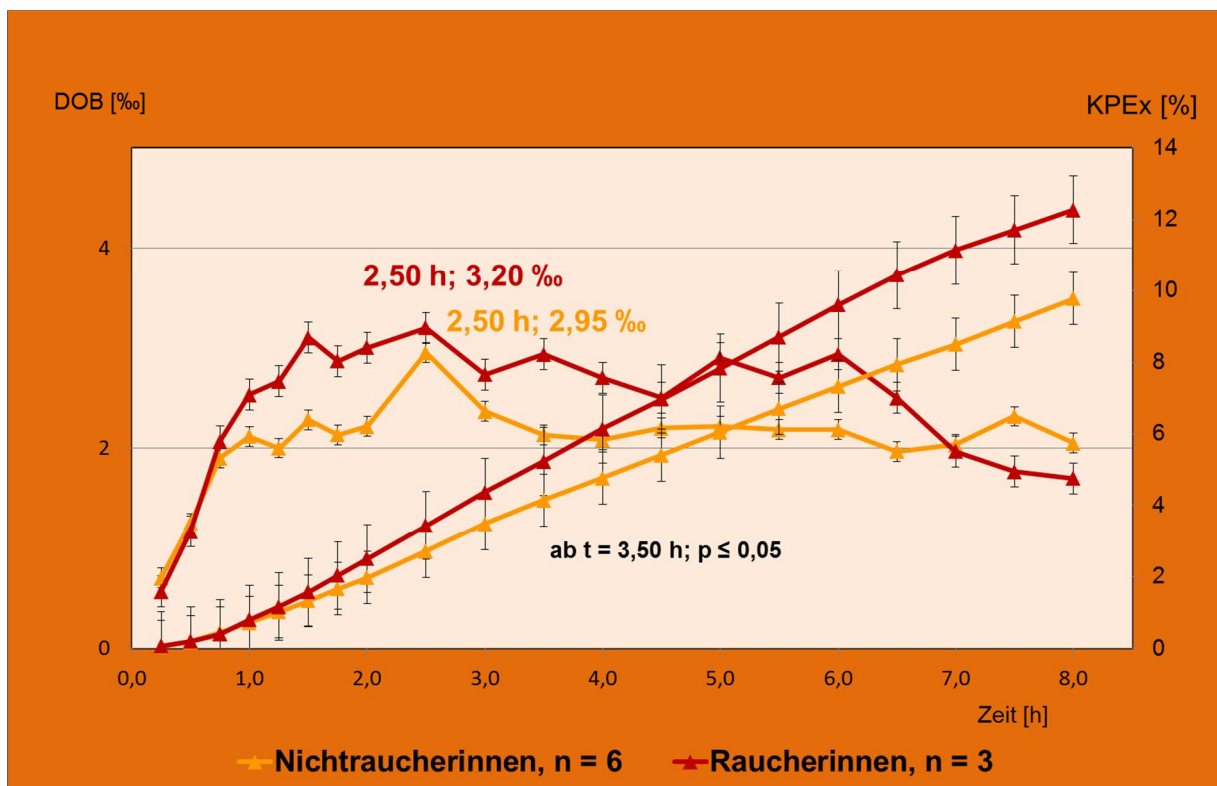
Unter KK unterscheiden sich die Graphen nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe von F und M lediglich im Anstieg nach Testbeginn (Abb. 22). Der Peak wird von den M 0,5 h früher erreicht und liegt 0,5 % über dem der F. Im weiteren Verlauf erreichen beide Kurven das gleiche Niveau und halten dieses bis zum Testende. Hier ergibt sich eine statistische Signifikanz von  $p = 0,04$ .

Die DOB-Werte, die von NRF und RF nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe gemessen wurden, weichen in der Höhe, jedoch nicht im Verlauf voneinander ab (Abb. 23). Die Messwerte der RF bleiben nach einem Anstieg auf 3,10 – 3,20 % bis zum Zeitpunkt  $t = 6,00$  h auf diesem Niveau. In der KPEx liegen die RF ab dem Zeitpunkt  $t = 3,50$  h signifikant über den NRF ( $p < 0,05$ ).

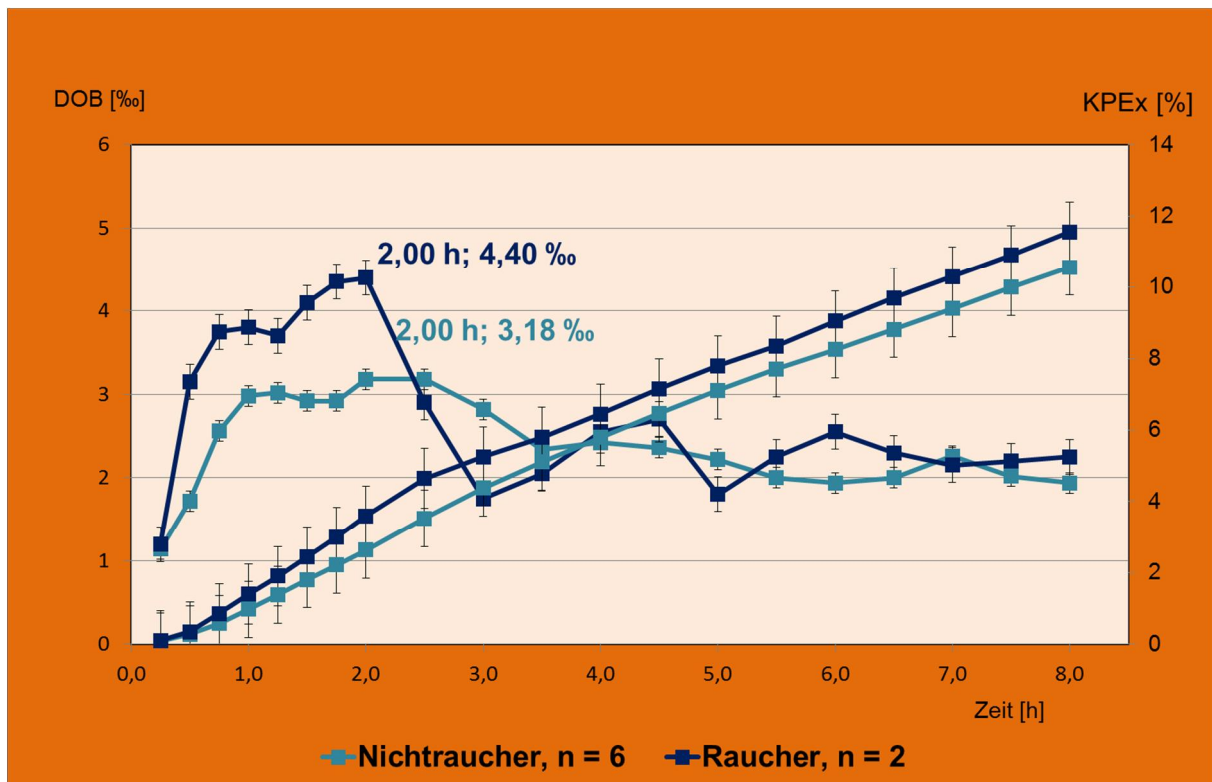
RM reagieren intensiver auf die  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe als NRM (Abb. 24). Der Anstieg der DOB-Werte ist steiler, der Peak nach  $t = 2,00$  h höher als der der NRM (4,40 % (RM) vs. 3,18 % (NRM), Tab. A1). Der Graph der RM sinkt und bleibt mit Schwankungen auf einem Niveau von 1,75 bis 2,55 %.



**Abbildung 22: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Frauen und Männern nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum**



**Abbildung 23: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtraucherinnen und Raucherinnen nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum**



**Abbildung 24: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtrauchern und Rauchern nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum**

Der KPEx-Graph der F schneidet den der M nach  $t = 5,00 \text{ h}$  und liegt dann leicht über diesem (Abb. 22). Die Diagramme der KPEx von F und M (Abb. 23 und 24) weisen auf eine intensivere Stoffwechseltätigkeit der Leber nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe bei R gegenüber NR hin. Da die KPEx-Werte der RF enden 2,49 % über dem der NRF. Dagegen unterschreiten die KPEx der NRM die der RM (Tab. A2).

## 5.7 Zusammenfassende Darstellung aller Tests

In den Abbildungen 25 bis 28 sowie der Tabelle 4 werden die Spitzenwerte der DOB und der KPEx aller Tests mit  $^{13}\text{C}$ -Coff und  $^{13}\text{C}$ -Ampy dargestellt. Signifikante Differenzen wurden entsprechend gekennzeichnet.

Die DOB-Spitzenwerte aller Probanden (G = gesamt) liegen unter KA leicht über denen unter KK (0,5 ‰), die der NR unterscheiden sich kaum (0,1 ‰). Bei R übersteigt unter KA der Spitzenwert von 4,8 ‰ den unter KK um 1,2 ‰.

Unter KK wurden NR und R nur mit dem CAT getestet. Die Spitzenwerte liegen mit 10,1 bzw. 12,0 % (KPEx) und 3,1 bis 3,6 ‰ (DOB) auf annähernd gleichem Niveau.

Differenzen zeigen sich unter KA. Mit dem CAT werden DOB-Messwerte auf niedrigerem Niveau ermittelt, als mit dem AAT. Die Relationen zwischen den Probandengruppen sind jeweils gleich.

In allen Tests wurden bei den R im Vergleich zu NR jeweils höhere Maximalwerte der DOB-Werte gemessen (Abb. 25 bis 28). Mit Ausnahme der RM im Vergleich zu RF liegen die Maxima der M über den Werten der F. Dabei wurden die höchsten Differenzen der maximalen Mittelwerte zwischen NR und R ermittelt (3,2 ‰ vs. 4,8 ‰).

Tabelle 4 gibt neben den Signifikanzen die Mittelwerte und Varianzen der Testreihen wieder. In den Tabellen A1 und A2 sind die statistischen Parameter der Testreihen (Anzahl, Mittelwert, Minimum, Maximum, Standardabweichung) aufgeführt. Sie beziehen sich jeweils auf die Mittelwerte der angegebenen Probandenstichprobe.

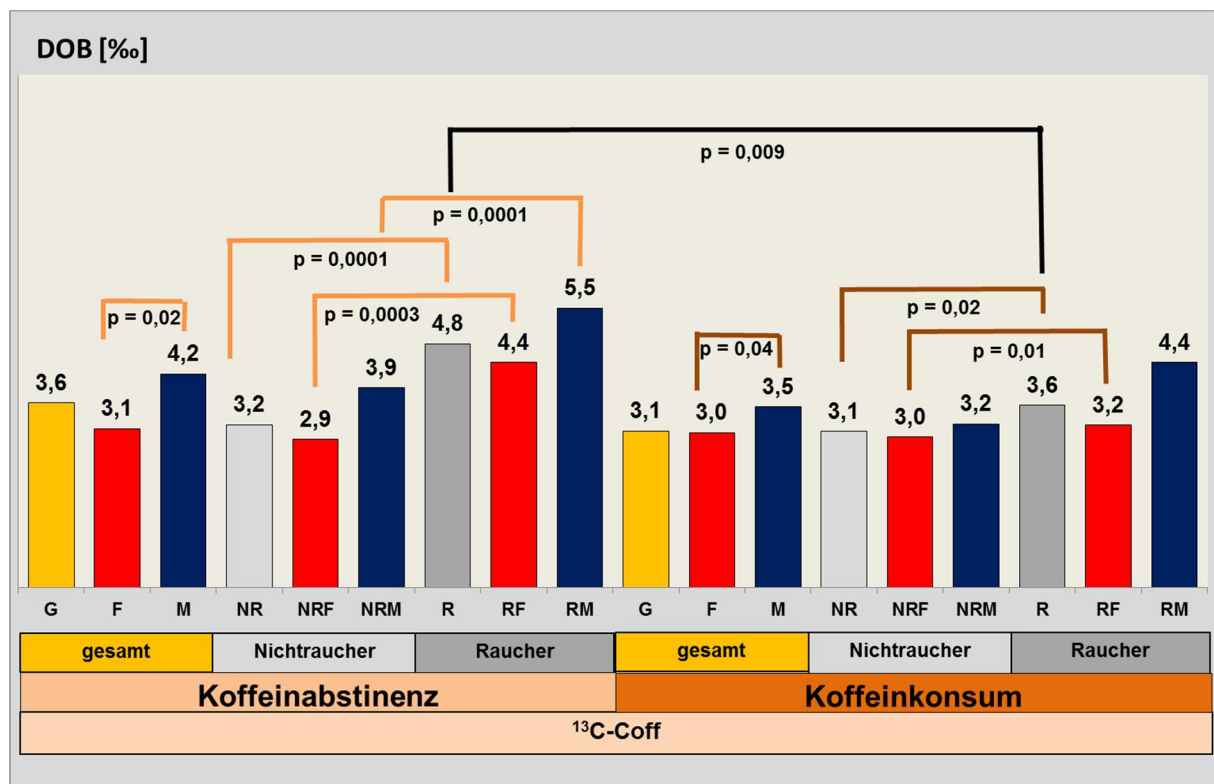


Abbildung 25: DOB-Spitzenwerte des [<sup>13</sup>C<sub>3</sub>]Coffein-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer

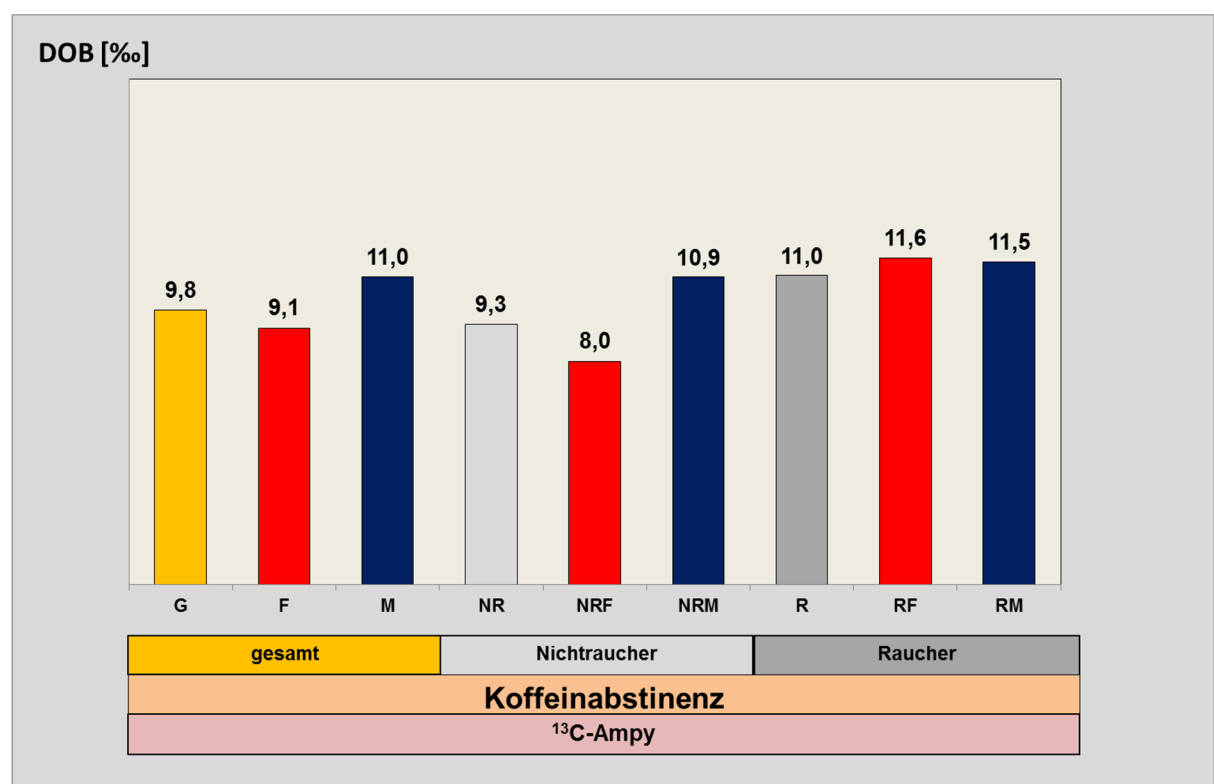


Abbildung 26: DOB-Spitzenwerte des [<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Aminopyrin-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer

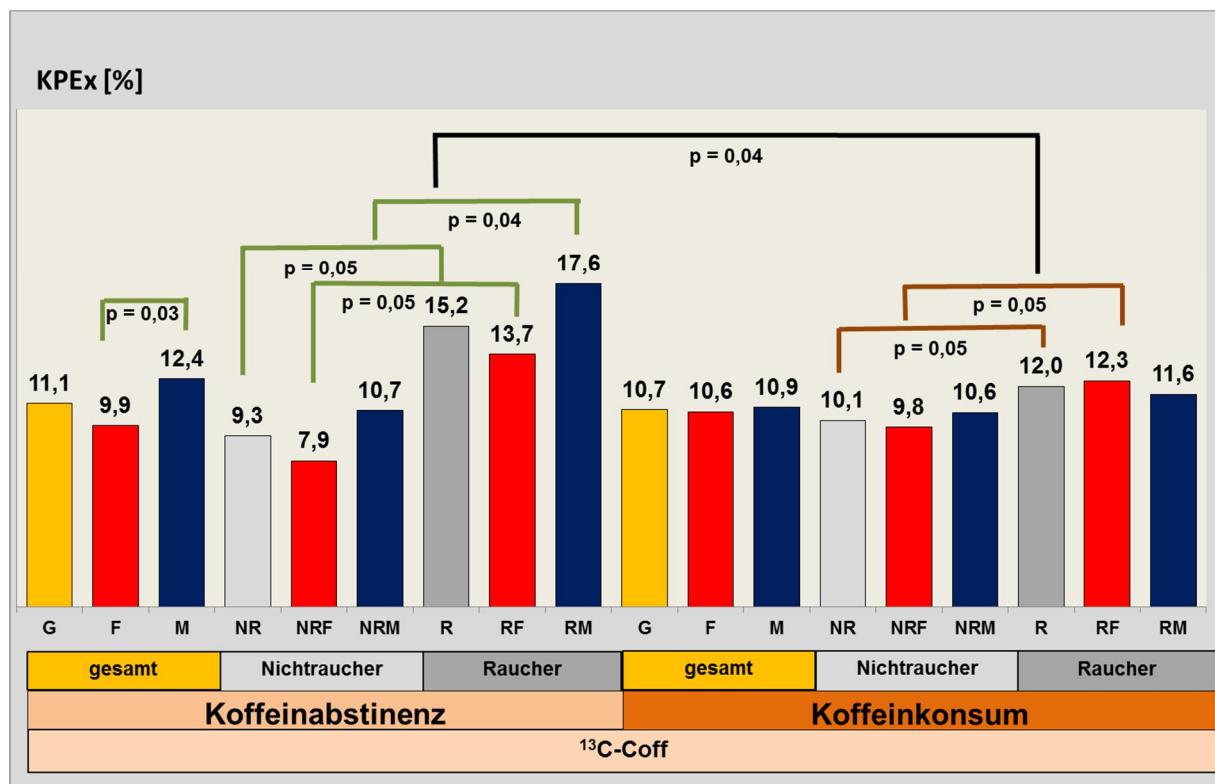


Abbildung 27: Kumulative prozentuale Exhalationswerte des [<sup>13</sup>C<sub>3</sub>]Coffein-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer

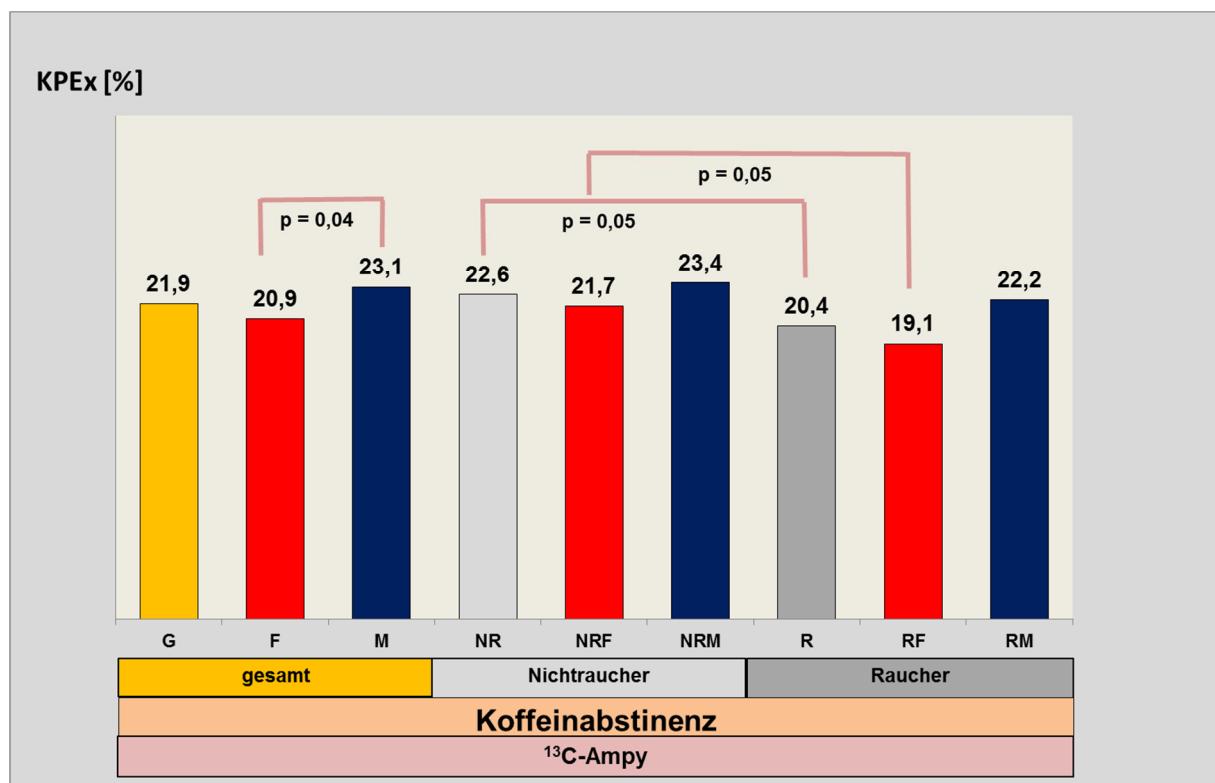


Abbildung 28: Kumulative prozentuale Exhalationswerte des [<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]Aminopyrin-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer

**Tabelle 4: Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen, zweiseitiger t-Test, jeweils 20 Beobachtungen**

Mittelwert (MW); Varianz ( $v^2$ ); Freiheitsgrade (df); Testzeitpunkt ab (t); Signifikanz zweiseitig  $P(T \leq t)$  mit \*signifikant

Test	Variable 1		Variable 2		df	Signifikanz	
	MW	$v^2$	MW	$v^2$		t	$P(T \leq t)$
DOB der NR und R nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz	6,04	4,37	5,76	11,21	32	0,25	0,75
DOB der NR und R nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz	2,13	0,43	3,38	1,23	31	0,25	0,0001*
KPEX nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe bei NR und R unter Koffeinabstinenz	21,68	0,78	19,90	0,23	3	7,00	0,05*
KPEX nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe bei NR und R unter Koffeinabstinenz	4,31	10,2	7,13	26,38	32	0,25	0,05*
DOB der NR und R nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum	2,22	0,20	2,58	0,42	34	0,25	0,05*
KPEX nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe bei NR und R unter Koffeinkonsum	8,33	1,66	10,01	2,28	12	5,00	0,05*
DOB aller Probanden nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz	2,33	0,24	2,52	0,59	32	0,25	0,35
KPEX nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe aller Probanden unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz	4,60	11,66	4,46	10,06	38	0,25	0,79
DOB der NR nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz	2,22	0,20	2,16	0,42	34	0,25	0,38
DOB der R nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz	2,57	0,43	3,38	1,24	31	0,25	0,009*
KPEX nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe bei NR unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz	4,48	11,39	4,31	10,22	38	0,25	0,87
KPEX nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe bei R unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz	8,50	6,03	11,09	9,65	19	5,00	0,04*
DOB von F und M nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter	5,73	5,64	6,24	6,93	38	0,25	0,53



Test	Variable 1		Variable 2		df	Signifikanz	
	MW	v <sup>2</sup>	MW	v <sup>2</sup>		t	P(T<=t)
Koffeinabstinenz							
KPEX von F und M nach <sup>13</sup> C-Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz	19,87	0,78	21,74	1,39	6	6,50	0,04*
DOB von NRF und RF nach <sup>13</sup> C-Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz	5,74	2,83	5,65	15,5	26	0,25	0,93
DOB von NRM und RM nach <sup>13</sup> C-Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz	6,34	6,66	5,93	8,38	38	0,25	0,64
KPEX von NRF und RF nach <sup>13</sup> C-Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz	20,44	1,30	18,75	0,13	4	6,50	0,05*
KPEX von NRM und RM nach <sup>13</sup> C-Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz	11,85	63,38	11,03	61,37	28	0,25	0,74
DOB von F und M nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz	2,23	0,39	2,84	0,90	33	0,25	0,02*
KPEX von F und M nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz	7,44	3,06	9,54	4,42	17	3,00	0,03*
DOB von NRF und RF nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz	1,85	0,21	2,99	1,24	25	0,25	0,0003*
KPEX von NRF und RF nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz	3,61	7,20	6,24	22,92	30	0,25	0,04*
DOB von NRM und RM nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz	2,47	0,81	3,96	1,40	35	0,25	0,0001*
KPEX von NRM und RM nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz	5,55	12,27	8,89	33,43	28	0,75	0,04*
DOB von F und M nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Kaffeikonsum	2,26	0,13	2,58	0,28	31	0,50	0,04*
KPEX von F und M nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Kaffeikonsum	4,55	12,82	4,98	13,42	38	0,25	0,67
DOB von NRF und RF nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Kaffeikonsum	2,14	0,09	2,88	0,77	22	0,50	0,01*
KPEX von NRF und RF nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Kaffeikonsum	9,00	5,88	6,97	3,57	17	3,00	0,05*
DOB von NRM und RM nach <sup>13</sup> C-Coff-Gabe unter Kaffeikonsum	2,46	0,22	2,88	0,77	28	0,50	0,08

Test	Variable 1		Variable 2		df	Signifikanz	
	MW	$v^2$	MW	$v^2$		t	P(T<=t)
KPEx von NRM und RM nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum	4,85	12,43	5,53	13,85	38	0,25	0,56

## **6 Diskussion**

### **6.1 Diskussionen des Studiendesigns**

#### **6.1.1 Diskussion der Testdurchführung**

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss der Alkaloide Nikotin und Koffein auf die Entgiftungsfunktion der Leber zu untersuchen. Als Probanden wurden gesunde Männer und Frauen im Alter von 23 bis 51 Jahren ausgewählt, wobei auf ein ausgewogenes Geschlechterverhältnis geachtet wurde.

Die Testungen erfolgten standardisiert in Anlehnung an die Versuchsdurchführung von Wetzel und Fischer (2001) nach einer mindestens 8-stündigen nächtlichen Fastenphase. (Wetzel und Fischer, 2001, Kasicka-Jonderko et al., 2011) Auch die Arbeitsgruppe um Kasicka-Jonderko (2011) führte ihre Testungen nach diesem Standard durch (Kasicka-Jonderko et al., 2011).

Wetzel und Fischer (2001) verabreichten die Tracer auf nüchternen Magen mit Flüssigkeiten. In den vorliegenden Untersuchungen nahmen die Probanden die Tracersubstanz zum Frühstück ein. Sie war auf der Ecke eines mit Marmelade bestrichenen Brötchens aufgebracht und wurde mit einem Bissen aufgenommen. (Wetzel und Fischer, 2001)

Reste des Tracers im Einwaage- und Transportgefäß wurden mit Apfelsaft ausgespült und von den Probanden getrunken. Nach Aussage der Probanden überdeckte die süße Marmelade den unangenehmen bitteren Geschmack des Tracers, was deren Aufnahme erleichterte.

##### **6.1.1.1 Testdurchführung zur Untersuchung des Koffeineinflusses**

Die Stiftung Warentest veröffentlichte Koffeingehalte unterschiedlicher Kaffeemarken. Die meisten, darunter die Marke JACOBS Krönung, enthielten 1,2 g Koffein je 100 g Kaffeepulver (Stiftung Warentest, 2009), sodass für diese Untersuchungen eine Sorte mit einer für den Durchschnittskaffeetrinker repräsentativen Koffeinmenge gewählt wurde.

In der aktuellen Debatte über einen möglicherweise schädlichen Koffeinkonsum in großen Mengen wird kontrovers diskutiert. Faust (2015) bezeichnet eine Dosis von sechs bis zehn Tassen Kaffee am Tag als sogenannten „Coffeinismus“. Damit meint er einen überzogenen Koffeinkonsum, der eine Abhängigkeit zur Konsequenz haben kann. (Faust, 2012)

Da die Angaben zu unschädlichen maximalen Aufnahmemengen an Koffein schwanken, wurde im Vorfeld der Testreihe festgelegt, dass für die Studie eine repräsentative Kaffeemarke mit einem durchschnittlichen Koffeingehalt zum Einsatz kommt. Davon wurde eine Menge eingesetzt, die für einen durchschnittlichen Probanden unproblematisch ist, aber innerhalb der 7 Testtage eine klinische Symptomatik provoziert. Dabei werden 5 - 6 mg Koffein pro kg Körpergewicht bzw. 300 - 400 mg pro Tag als moderater Kaffee-Genuss angesehen. Die letale Dosis liegt beim Menschen bei 10 g Coffein, was etwa 100 Tassen Kaffee entspricht (Forth und Adam, 2001, Nawrot et al., 2003, Nieber et al., 2007). Allerdings musste für die Testdurchführung eine ausreichende Menge Kaffee gewählt werden, um eine mögliche Enzyminduktion oder Enzyminhibierung zu erfassen. Deshalb wurde pro Tag eine Pulvermenge für 6 Tassen Kaffee festgelegt.

Siebzehn Probanden nahmen an der Testreihe der vorliegenden Studie teil. Zunächst wurde nach mehrtägiger Koffeinabstinenz mittels eines CAT die Entgiftungsfunktion der Leber ohne Koffeineinfluss ermittelt. Die Abstinenzzeit der Probanden variierte zwischen 3 Tagen (1 Proband), 6 Tagen (4 Probanden) und 7 Tagen (6 Probanden), weitere 6 Probanden verzichteten 14 Tage auf jegliche Koffeinzufuhr. Während der Abstinenzphase durften die Probanden keine heiße Schokolade trinken, um die Koffeinaufnahme auch über diesen Weg zu vermeiden. Da der Genuss jeglicher Schokolade nicht ausdrücklich untersagt war, ist eine minimale Koffeinzufuhr durch Tafelschokolade bei einzelnen Probanden nicht auszuschließen.

Fünfzehn Probanden führten im Anschluss an die koffeinfreie Phase einen einwöchigen Koffeinabusus von mindestens 6 Tassen Kaffee täglich durch. An jedem Morgen wurden mindesten 6 gestrichene Löffel gemahlenen Kaffees (das entspricht 54 g Kaffeepulver) der Marke JACOBS Krönung mittels handelsüblicher Kaffeemaschinen als Filterkaffee aufgebrüht und über den Tag verteilt getrunken. Eine Probandin musste diese Phase aufgrund einer Unverträglichkeitsreaktion auf die Koffeinüberdosierung abbrechen und holte den fehlenden Abusus mit einer an das Körpergewicht adaptierten Koffeinmenge von 4 Tassen Kaffee pro Tag einige Wochen später nach.

#### **6.1.1.2 Testdurchführung zur Untersuchung des Nikotineinflusses**

Ein Test zu Beurteilung der Leberfunktion zeichnet sich durch die Verwendung einer nicht-toxischen Substanz aus, die ausschließlich durch die Leber metabolisiert und

oral eingenommen wird, sowie leicht und nicht invasiv (z.B. im Urin, Speichel oder Atemgas) gemessen werden kann (Musialik et al., 2015). Daher wurden zur Untersuchung des Einflusses von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber Atemgastests mit den Tracern  $^{13}\text{C}$ -Ampy und  $^{13}\text{C}$ -Coff gewählt. Die 17 Probanden führten 3 Testreihen durch, eine Testreihe mit  $^{13}\text{C}$ -Ampy und zwei Testreihen mit  $^{13}\text{C}$ -Coff.

Als Probanden unter Nikotineinfluss wurden R getestet, als Vergleichsprobanden ohne Nikotineinfluss nahmen NR an den Untersuchungen teil. Als R galt jeder Proband, der im Durchschnitt mindestens 15 Zigaretten pro Tag konsumierte. Der Nikotingehalt einer Zigarettenmarke ist auf den Etiketten der Packungen angegeben. Um die aufgenommene Menge Nikotin pro Tag berechnen zu können, wurde deshalb neben der Anzahl Zigaretten, die in der Testphase von den Probanden geraucht wurde, die jeweilige Marke erfasst.

Die Testtage waren bei allen Probanden gleich strukturiert, sodass Art und Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme die Ergebnisse nicht beeinflussen konnten. Jeder Proband gab um 7:45 Uhr eine Leerprobe des Atems ab und nahm danach um 08:00 Uhr das Frühstück und somit die Tracersubstanzen, wie im Kapitel Material und Methoden (4.3.3 Tracereinnahme) beschrieben, standardisiert auf. Die Mittagsmahlzeiten der Probanden unterschieden sich nur geringfügig. So bekam jeder Proband am AAT-Tag zum Mittag Spaghetti Bolognese, am ersten CAT-Tag Spinat mit Kartoffeln und Rührei sowie am letzten Testtag Kartoffeln mit Sauce Hollandaise, Brokkoli und Cordon bleu. Da die Mittagsmahlzeit nicht in Verbindung mit der Tracereinnahme stand, durften die Probanden deren Menge selbst bestimmen. Das Mittagessen wurde zwischen 12:00 und 13:00 Uhr eingenommen, die Zeiten variierten zwischen den Probanden nur geringfügig.

Alle Probanden sammelten die 20 Atemgasproben pro Tag über einen Zeitraum von insgesamt 8 Stunden nach Tracereinnahme verteilt, also von 08:00 bis 16:00 Uhr.

### **6.1.2 Rekrutierung der Probanden**

Das Studiendesign sah zunächst vor, je 12 R- und NR-Probanden zu rekrutieren, um alle Teilnehmer in gleicher Weise und Dauer die Testreihen durchführen lassen zu können. Dies erwies sich jedoch als nicht realisierbar.

Zunächst erklärten sich nur NR bereit, an der Studie teilzunehmen. Gewöhnlich trinken NR nur relativ geringe Mengen Kaffee pro Tag. Somit war die KA für die NR kein

Problem. Dagegen konnte eine Probandin die für normale Kaffeetrinker erhebliche Menge von 6 Tassen am Tag nicht konsumieren. Für sie wurde die Kaffeemenge an das Körpergewicht angepasst.

Zu Beginn der Untersuchungen fühlten sich die R, die sich grundsätzlich bereit erklärten, an der Studie teilzunehmen, nicht in der Lage, über 14 Tage auf jegliche Form einer Koffeinzufuhr zu verzichten. Deshalb musste die Zeitspanne der Koffeinabstinenz von 14 auf 6 Tage herabgesetzt werden, um die Testreihe mit R durchführen zu können.

Daraus lässt sich ableiten, dass NR und R ein unterschiedliches Suchtverhalten zeigen:

- NR sind in der Lage, einen bestimmten Zeitraum auf Koffein zu verzichten, unabhängig davon, wie viel Kaffee sie gewöhnlich konsumieren. Für NR ist es problematisch, eine große Kaffeemenge zu sich zu nehmen, wenn sie normaler Weise keinen oder wenig Kaffee trinken.
- Bei R dagegen stellt sich das Suchtverhalten als kooperativ da. R, die auch Kaffee konsumieren, fühlen sich in der Regel nicht in der Lage, auf die tägliche Zufuhr von Koffein zu verzichten. Über einen gewissen Zeitraum größere Mengen Kaffee zu trinken, ist für R dagegen problemlos möglich.

Das Suchtverhalten von R war allerdings nicht Gegenstand dieser Studie. Es erwies sich aber als Problem bei der Rekrutierung der Probanden, weshalb es an dieser Stelle erwähnt werden muss, da es die geplante Zahl der Probanden deutlich reduzierte.

### **6.1.3 Einschluss- und Ausschlusskriterien für Probanden**

Um die Nicht-Invasivität von Atemgastests zu unterstreichen, wurde auf Leberbiopsien, Blut- und Urinuntersuchungen der Teilnehmer verzichtet. Eine ausführliche Anamnese sicherte die Auswahl der für die Testreihe geeigneten Probanden (s. Kap. Material und Methoden 4.1.1 und 4.1.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien). Die Probanden wiesen keine chronischen Erkrankungen auf. Bei keinem Probanden lagen eine Medikamentenanamnese oder Hinweise auf eine äthyltoxische Vorschädigung der Leber vor.

Wie im Kapitel 4.1.1 erwähnt, wurde das Alter der Probanden auf mindestens 18 und höchstens 60 Jahre festgelegt. Die obere Altersbegrenzung war erforderlich, um auszuschließen, dass eine altersbedingte Einschränkung der Leberfunktion vorliegt.

Sowohl die Leberdurchblutung, als auch das Gesamtgewicht der Leber ist im Alter deutlich reduziert. Dies scheint der Hauptgrund für die reduzierte Metabolisierung hepatisch abgebauter Medikamente zu sein. Es ist eine Verringerung des Metabolismus von 30 % bekannt, dieser kann jedoch nicht nur an der geringeren Leberperfusion liegen, da ausschließlich die Phase-I-Metabolisierungswege (u.a. Oxidation und Reduktion) vermindert sind. Die Konjugierung (Phase II) ist davon nicht betroffen. Im Alter nimmt außerdem das Serumalbumin ab. Die Transaminasen, die alkalische Phosphatase und die Gamma-GT weisen jedoch mit fortgeschrittenem Alter keine Veränderungen auf. (Siewert und Rothmund, 2013)

Die Einnahme von oralen Kontrazeptiva auf  $^{13}\text{C}$ -Ampy wird in der Literatur als Beeinträchtigung im Testverfahren beschrieben. In dem sie Einfluss auf das mikrosomale System der Leber nehmen, beeinträchtigen sie den AAT, da dieser die cytochromabhängige Stoffwechselfunktion misst (Sensing et al., 1983, Opekun et al., 1995). Aufgrund dieser Kenntnis wurde im Vorfeld der Untersuchungen darauf geachtet, dass die weiblichen Probanden keine oralen Kontrazeptiva einnahmen.

#### **6.1.4 Nicht-dispersive Infrarot-Spektroskopie vs. Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie als Messmethode für den DOB-Wert im Atemgas**

In den vorliegenden Untersuchungen kam die nicht-dispersive Infrarot-Spektroskopie (NDIS) zur Analyse der gewonnenen Atemgasproben zur Anwendung. Der Vorteil dieser Messmethode ist die Wirtschaftlichkeit, da dieses Messverfahren im Vergleich zu der Isotopenverhältnis-Massenspektroskopie kostengünstiger ist und zeiteffizienter arbeitet. Als zusätzlicher Vorteil der NDIS ist die geringere Störanfälligkeit des Messgerätes zu sehen (Meinke, 2006). Braden et al. (1991, 1999) belegten in mehreren Untersuchungsreihen eine hohe Übereinstimmung der gemessenen Werte beider Methoden (Braden et al., 1991, Braden et al., 1999). So zeigte die NDIS eine Abweichung von nur  $0,28 \pm 1,93 \text{ ‰}$  gegenüber mit einem Isotopenverhältnis-Massenspektrometer gemessenen Werten. Außerdem ließ sich für das in den vorliegenden Untersuchungen verwendete Messverfahren eine mit der Massenspektroskopie vergleichbare Sensitivität von 97,8 % ermitteln. Somit ist die NDIS für diese Untersuchungen eine hinreichende genaue und zugleich wirtschaftliche Methode für die Analyse der Atemgasproben.

### **6.1.5 Kombination und Interaktionen der Tracersubstanzen**

Die Tracersubstanzen  $^{13}\text{C}$ -Ampy und  $^{13}\text{C}$ -Coff werden im menschlichen Körper ausschließlich in der Leber metabolisiert bzw. abgebaut und können dementsprechend zur Analyse der mikrosomalen metabolischen Leberfunktion genutzt werden. Auch Caubet et al. (2002) wählten zur Untersuchung des Einflusses von Nikotin, Geschlecht und Einnahme oraler Kontrazeptiva auf die Entgiftungsfunktion der Leber diese Atemgastest-Kombination.

Koffein wird hauptsächlich über das Enzym CYP1A2 metabolisiert. Anhand der Verstoffwechselung von  $^{13}\text{C}$ -Coff kann beurteilt werden, welche Substanzen dem Koffein-Metabolismus entsprechend als Inhibitor oder Induktor für das CYP1A2 wirken. Da CYP1A2 ebenfalls am  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Metabolismus beteiligt ist, kann mit dem CAT in Verbindung mit dem AAT, die CYP1A2-Aktivität ausgewählter Substanzen untersucht werden, indem spezifische und nichtspezifische CYP450-Enzym-Aktivitäten phänotypisch verglichen werden.

In Hinblick auf eine mögliche Interaktion ist zu bedenken, dass im menschlichen Körper die Wirkung von Arzneimitteln individuell in Abhängigkeit von unterschiedlichen internen Faktoren, wie z. B. Geschlecht oder ethnische Abstammung, determiniert wird. Hinzu kommen nicht genetische, externe Einflussfaktoren, die auf den Organismus einwirken, wie Ernährungsgewohnheiten, Krankheiten oder unterschiedliche Umwelt- und Genussgifte. Aufgrund dieser Einflüsse ist die Wirkung eines Arzneimittels auf einzelne Individuen bei gleicher Dosis häufig variabel und manchmal auch nicht vorhersehbar. (Frye, 2004)

Bei der Verstoffwechselung von Arzneimitteln kommt es zur Eliminierung von bestimmten Substanzen oder zur Bildung von aktiven Metaboliten. Die Variabilität des enzymatischen Metabolismus hat darum einen entscheidenden Anteil an den beobachteten interindividuellen Unterschieden der Arzneimittelantwort. (Breimer und Schellens, 1990)

### **6.1.6 Metabolisierungswege der Tracersubstanzen**

Zur quantitativen Bestimmung der Leberfunktion ist neben dem [ $^{13}\text{C}$ ]Methacetin-Atemtest der AAT der am weitesten verbreitete und am besten untersuchte Atemgastest. In der vorliegenden Arbeit wurde er genutzt, um den Einfluss des Nikotins auf den Lebermetabolismus im Vergleich zwischen R und NR aufzuzeigen.



Aufgrund der Metabolisierungswege der Tracer ist es möglich, über Atemgastests mit diesen Substanzen die Entgiftungsfunktion der Leber zu untersuchen. Im Folgenden sollen die Abbauewege der Tracer im menschlichen Körper erläutert werden.

#### **6.1.6.1 Metabolisierung von [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin**

Der AAT ist zur quantitativen Messung der Leberfunktion bei Patienten mit chronischer Hepatitis und Leberzirrhose hilfreich. (Morelli et al., 1981, Giannini et al., 2002)

Der Test kann außerdem genutzt werden um eine quantitative Progression einer Hepatitis C bei Patienten zu beurteilen. (Rocco et al., 2012)

Mit dem AAT wird die mikrosomale metabolische Kapazität der Leberzellen erfasst. Der Vorteil der Substanz  $^{13}\text{C}$ -Ampy liegt in einem schnellen Abbau, der ausschließlich in der Leber erfolgt.

Die biochemische Grundlage des Testes ist die Demethylierung des Aminopyrins [4,4-Di[ $^{13}\text{C}$ ]Methylaminoantipyrin] durch das mikrosomale, Cytochrom-P-450-abhängige Enzym Amino-N-Demethylase. Beteiligt an seinem Abbau sind folgende spezifische Enzyme: CYP2C19, CYP1A2 und CYP3A4, wobei das CYP1A2 die Hauptrolle übernimmt. Das dabei entstehende  $^{13}\text{CO}_2$  wird sehr schnell in das Blut aufgenommen und über die Lunge abgeatmet. Die Intensität des Demethylisierungsvorganges kann daher anhand des  $^{13}\text{CO}_2$ -Gehaltes in der Atemluft des Probanden gemessen werden. Diese Ergebnisse korrelieren folglich mit der  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Clearancerate im Plasma. (Stein und Wehrmann, 2006, Keller, 2011)

$^{13}\text{C}$ -Ampy hat den Vorteil, dass es nur einem niedrigen first-pass-Mechanismus in der Leber unterliegt und somit als sensibler Test für die Leberfunktionsbeurteilung via Atemtest gilt (Lane, 1988). Ein weiterer Vorteil ist die von der Leberdurchblutung unabhängige Abbaurate (Irving et al., 1982, Brockenmöller und Roots, 1994). Der AAT kann als Maß für die funktionelle Leberkapazität angewendet werden, da eine herabgesetzte Demethylierungsrate mit einem verringerten Volumen an funktionellen Hepatozyten einhergeht (Reichen et al., 1987). Der AAT ist als Marker für die Regenerationsfähigkeit der Leber gut geeignet, weil die Ergebnisse mit der Schwere der histologischen Schädigung, z.B. bei einer alkoholischen Leberschädigung, eng korrelieren (Schneider et al., 1980). Außerdem zeigt er eine große Treffsicherheit hinsichtlich der prognostischen Beurteilung von Lebererkrankungen (Henry et al., 1985, Merkel et al., 1992, Urbain et al., 1995, Adler et al., 1997) und Medikamenten-

intoxikationen der Leber (Saunders et al., 1980). Der AAT reflektiert quantitativ die mikrosomale Funktion von zirrhotischen Lebern (Bircher et al., 1976).

Der AAT wird häufig eingesetzt, um die Funktion des CYP450-abhängigen Monooxygenasesystems bei unterschiedlichen Medikamenteneinflüssen zu bestimmen (Caspary et al., 1976, Guitton et al., 1994, Horsmans et al., 1994, Opekun et al., 1995, Giannini et al., 2002).

Leclercq et al. (1998) nutzten den Test zur konkreten Untersuchung der Aktivität von CYP 1A2 und 3A (Leclercq et al., 1999).

Der Einsatz bei cholestatischen Lebererkrankungen hat sich allerdings als unbrauchbar erwiesen (Baker et al., 1987), da  $^{13}\text{C}$ -Ampy in der Leber abgebaut wird und nicht dem enterohepatischen Kreislauf unterliegt. Der AAT gibt keine Auskunft über die Ätiologie der Leberfunktionsstörung und kann in dieser Hinsicht eine Leberbiopsie nicht ersetzen (Ghoos et al., 1994).

Wurzbacher (2007) belegte in seiner Studie zum AAT, dass dieser die durch eine Sepsis hervorgerufene Hemmung der Leberfunktion quantitativ widerspiegelt. Des Weiteren ergab sich durch die Anwendung des AAT die Möglichkeit, eine Aussage über die Prognose eines septischen Patienten zu treffen. So deuten persistierend niedrige AAT-Werte auf eine stark eingeschränkte Leberfunktion hin. Damit verbunden sind negative Auswirkungen auf die Entgiftung und Ausscheidung toxischer Stoffe, die gestörte Synthese von Proteinen und Gerinnungsfaktoren und die fehlende Aufrechterhaltung der Homöostase von Stoffwechselvorgängen, die entscheidende Faktoren für die Prognose des Patienten darstellen. (Wurzbacher, 2007)

Aufgrund dieser vielfältigen Einsetzbarkeit kann der AAT genutzt werden, um den Einfluss von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber zu beurteilen. Da in dieser Studie nur eine geringe Anzahl Raucher ( $n = 5$ ) getestet wurde, konnte im Gegensatz zu Caubet et al. (2002) mittels des AAT nur teilweise ein signifikanter Einfluss nachgewiesen werden.

#### **6.1.6.2 Metabolisierung von [Trimethyl- $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein**

Koffein bzw.  $^{13}\text{C}$ -Coff, wird im menschlichen Körper, so wie das Nikotin, ausschließlich in der Leber metabolisiert und kann dementsprechend neben dem  $^{13}\text{C}$ -Ampy zur Untersuchung der mikrosomalen metabolischen Leberfunktion genutzt werden.

Da das Koffein fast vollständig resorbiert wird, kann es oral substituiert werden. Die biochemische Verstoffwechselung erfolgt ausschließlich über die N-Demethylierung durch die hepatischen mikrosomalen Enzyme Cytochrom-P-450- und P-448. Durch eine oxidative N-Demethylierung wird eine Methylgruppe entfernt, sodass Paraxanthin, Theophyllin und Theobromin entstehen. Daraufhin kommt es durch eine erneute Demethylierung zur Bildung von Monomethylxanthinen. Nach deren Oxidation am Kohlenstoffatom C-8 entsteht ein Harnsäurederivat. Anschließend kommt es zu Hydratation und Oxidation mit einer Ringspaltung, im Ergebnis bildet sich ein Uracilderivat. Durch die Oxidation von deren Methylgruppen entsteht  $\text{CO}_2$ , das nach dem Abbau des  $^{13}\text{C}$ -Coff über den beschriebenen Abbauweg als  $^{13}\text{CO}_2$  in der Atemprobe eines Probandes gemessen wird. (Stavric und Gilbert, 1990, Golden et al., 1994)

### **6.1.7 Externe Einflussfaktoren auf den AAT-Atemtest**

#### **6.1.7.1 Einfluss der Dauer der Nahrungskarenz auf die $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation**

In der Arbeit von Wetzel und Fischer wird darauf hingewiesen, dass die Tracereinahme in nüchternem Zustand eines Probanden zu erfolgen hat. Der nüchterne Zustand setzt eine nächtliche Nahrungskarenz von mindestens 8 h voraus, um die endogene  $^{13}\text{CO}_2$ -Ausscheidung und ihre intraindividuellen Schwankungen so gering wie möglich zu halten. (Wetzel und Fischer, 2001)

Die natürliche endogene Exhalation von  $^{13}\text{CO}_2$  nimmt ab, wenn eine parenterale Zufuhr eines reinen Lipidgemisches anstelle eines Glukose-Aminosäuren-Gemisches erfolgt. Der Grund dafür liegt im niedrigeren  $^{13}\text{C}$ -Gehalt der Lipide (Schoeller et al., 1980, Sensing et al., 1983). Bei einer kohlenhydratarmen Ernährung kommt es zu einer vermehrten Lipolyse und zur Oxidation von Fettsäuren. Dies zeigten Wutzke et al. (2001) in ihrer Arbeit zur Hay'schen Diät. (Wutzke et al., 2001). Eine vergleichbare Situation ist die Nahrungskarenz, was deren Notwendigkeit vor der Durchführung eines  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests begründet (Malmendier et al., 1974). Nachdem der Kohlenhydratspeicher (Glykogen) vollständig aufgebraucht ist, beginnt der menschliche Körper, seinen Energiebedarf aus der Oxidation von Fettsäuren zu decken. Unter diesem Zustand einer Fastenphase ist eine gleichbleibend hohe endogene  $\text{CO}_2$ -Produktion zu erwarten (Schoeller et al., 1977, Schoeller et al., 1980, Löffler et al., 2006).

Da sich für manche Fragestellungen eine Nahrungskarenz nicht realisieren lässt, konzipierten Dubuc et al. (2000) eine  $^{13}\text{C}$ -arme Mahlzeit aus Reis, Milch und Orangensaft, die jedoch keine signifikanten Effekte auf die endogene  $^{13}\text{CO}_2$ -Ausscheidung zeigten (Dubuc et al., 2000). Schoeller et al. (1980) erstellten eine geeignete Test-Mahlzeit aus Weizenbrot, Käse und ungesüßtem Tee oder Kaffee, die nur eine minimale Schwankung der  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation bewirkte, weshalb diese Zusammenstellung als „neutral test meal“ bezeichnet wird (Schoeller et al., 1980).

In den vorliegenden Untersuchungen konnte eine Durchführung unter ausschließlich nüchternen Bedingungen nicht gewährleistet werden, da dies für die Probanden eine 16-stündige Nahrungskarenz bedeutet hätte. Um die intraindividuellen Schwankungen und die endogene  $\text{CO}_2$ -Produktion konstant zu halten, wurden deshalb eine 8-stündige Nahrungskarenz vor Testbeginn vorausgesetzt und ein standardisiertes Frühstück erstellt, welches alle Probanden in gleicher Form und Menge zu sich nahmen. Dies bestand aus einem halben Brötchen mit Butter und Marmelade bestrichen und einem halben Brötchen mit Butter und Salami belegt. Dazu erhielten alle Probanden 0,3 l Apfelsaft und am letzten Testtag zusätzlich die erforderlichen 2 Tassen Kaffee.

Auch die Mittagsmahlzeiten wurden für alle 17 Probanden weitestgehend gleich gestaltet, da es ihnen nur erlaubt war, die Menge der Mahlzeit zu variieren. Dieses Zugeständnis ist möglich, weil die Atemproben insbesondere der ersten 2 Stunden nach Tracereinnahme, die mit dem Frühstück erfolgte, für den Atemtest entscheidend sind. Die Gestaltung der Nahrungsaufnahme dieser Untersuchungen lässt somit eine Auswertung der Atemtests bei den 17 Probanden zu.

### **6.1.8 Interaktionen**

#### **6.1.8.1 Interaktion zwischen den $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein und Koffein**

Da es in der vorliegenden Arbeit gilt, den Einfluss von Koffein auf die Leberfunktion zu beurteilen, wurde vorausgesetzt, dass die Tracersubstanz  $^{13}\text{C}$ -Coff mit dem in handelsüblichem Kaffee enthaltenen Koffein biochemisch identisch ist und sich somit der Kaffee und der Tracer nicht gegenseitig beeinflussen. Eine potenzierende Wirkung durch den Tracer ist aufgrund der geringen Menge nicht anzunehmen. Ein durchschnittlicher Proband mit einem Körpergewicht von 70 kg nahm 1 mg Tracer je kg KG zu sich, dies entspricht einer Koffeinemenge von 70 mg. Hingegen wird der Koffeingehalt einer Tasse Kaffee mit 150 mg angegeben, was an den Testtagen ei-

ner Mindestmenge von 900 mg Koffein entspricht. Das Mengenverhältnis von Koffein aus dem Kaffee zu dem aus dem Tracer  $^{13}\text{C}$ -Coff beträgt somit 12,86 : 1 für einen durchschnittlichen Probanden. Allerdings ist zu diskutieren, ob bei der Probanden-Gruppe, welche während der KA den cross-over-Test mit  $^{13}\text{C}$ -Coff durchgeführt haben, die zugeführte Tracermenge die erforderliche KA unterbrochen hat. Dies war bei 6 NR und einem R der Fall, denen man deshalb möglicherweise unterstellen muss, dass ihre KA nicht ausreichte, um einen signifikanten Unterschied ermitteln zu können.

Kaplan et al. beschrieben 1997, dass die Plasmahalbwertszeit eines Menschen zwischen 3,5 und 6 h liegt, sich jedoch bei vermehrter Zufuhr von Koffein oder eingeschränkter Leberfunktion verlängert (Kaplan et al., 1997). Das bedeutet für diese Testreihe, dass trotz der einmaligen Gabe von  $^{13}\text{C}$ -Coff ein wash-out-Effekt stattgefunden haben muss, denn selbst bei einer 6-stündigen Halbwertszeit wäre die  $^{13}\text{C}$ -Coff-Menge im Körper der Probanden nach 24 h bereits verschwindend gering gewesen, da zu diesem Zeitpunkt weder eine Leberfunktionsstörung noch ein erhöhter KK bei den Probanden vorlagen. Somit ist die  $^{13}\text{C}$ -Coff-Aufnahme hinsichtlich der KA zu vernachlässigen.

Koffein wird hauptsächlich über CYP1A2 metabolisiert. Schumacher et al. zeigten, dass man mit dem CAT in der Lage ist, eine Enzyminduktion in der Leber nachzuweisen. (Schumacher et al., 1992)

#### **6.1.8.2 Interaktion zwischen [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin und Koffein**

Da der AAT ausschließlich in der KA-Phase der Untersuchungen durchgeführt wurde, ist auszuschließen, dass sich die Substanzen  $^{13}\text{C}$ -Ampy und Koffein gegenseitig beeinflusst haben. Eine Untersuchung des KK auf die Entgiftungsfunktion der Leber ist mittels AAT bisher nicht durchgeführt worden. Während der Planung des Testablaufes wurde deshalb in Erwägung gezogen, einen weiteren Test in der KK-Phase durchzuführen, um mit einer zweiten Substanz zu testen, welchen Einfluss Koffein auf die Leberfunktion hat. Dies war jedoch nicht realisierbar, da die Probandenrekrutierung aufgrund der dreimaligen Probensammlung des Atemgas über 8 h bereits einen erheblichen zeitlichen Aufwand darstellte. Die ersten Probanden führten die Testreihen an drei Wochenenden durch, da jeweils 7 Tage zwischen den Tests liegen sollten. Um einen zusätzlichen AAT durchführen zu können, hätte somit der KK um 7 Tage verlängert werden müssen. Das hätte zwar einen zweiten Tracer-

Vergleich ermöglicht, doch gerade in der Nichtrauchergruppe wären erhebliche Probleme der Compliance zu befürchten gewesen. Aus diesem Grund musste von der Möglichkeit, durch eine Erweiterung dieser Testreihe die Aussagefähigkeit der Untersuchungen zu erhöhen, Abstand genommen werden. Es ist deshalb zu empfehlen, den AAT als Untersuchungsmethode unter KA und KK über weitere Testreihen zu validieren, um den CAT bei Studien zur Metabolisierung von koffeinhaltigen Substanzen, z.B. zu Abbauwegen bzw. Untergruppen des CYP-P450-Systems, ersetzen zu können.

#### **6.1.8.3 Interaktion zwischen den Tracern [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein und [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin und Nikotin**

Sowohl der CAT, als auch der AAT werden in der Literatur als geeignete, nicht-invasive Methoden zur Beurteilung der mikrosomalen metabolischen Leberfunktion beschrieben. (Schumacher et al., 1992, Caubet et al., 2002, Pijls et al., 2014)

Aminopyrin als ehemaliges Schmerzmittel wird schnell und, so wie das Koffein, ausschließlich in der Leber verstoffwechselt.

Caubet et al. zeigten 2002, dass mit beiden Tests in Kombination nachgewiesen werden kann, dass Nikotin ein Induktor für das CYP-P-450-System ist (Caubet et al., 2002).

Nikotin wird in der Leber oxidativ abgebaut und mit einer Halbwertszeit (HWZ) von 2 h eliminiert. Das Enzym CYP2A6 metabolisiert Nikotin zu Cotinin, das zwar pharmakologisch unwirksam ist, jedoch kumuliert und dadurch in der Leber deutlich langsamer eliminiert wird (HWZ 20-30h). (Haustein und Groneberg, 2008)

Etwa 90 % des Nikotins, das zuvor durch das Rauchen einer Zigarette absorbiert wurde, werden metabolisiert, die restlichen 10 % werden unverändert renal eliminiert. (Bannier, 2008)

Eine Interaktion beider Tracer auf das Nikotin spielt in diesen Untersuchungen nur im Hinblick auf die R-Probanden eine Rolle, die während der Testtage Nikotin konsumierten. Da der Metabolisierungsweg des Nikotins, wie oben beschrieben, hauptsächlich über das Enzym CYP2A6 verläuft, die verwendeten Tracer jedoch durch die Enzymfamilien des Cytochrom-P-450-Systems verstoffwechselt werden ( $^{13}\text{C}$ -Ampy durch CYP1A2 und CYP3A sowie  $^{13}\text{C}$ -Coff durch CYP1A2 (Brockenmüller und Roots, 1994)), ist keine Interaktion zwischen den Substanzen möglich. Eine zusätzliche Testreihe der R unter Nikotinabstinenz ist somit nicht erforderlich.

## 6.2 Diskussion der Messwerte

### 6.2.1 $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit nach Tracer-Gabe

Unter KA und KK steigen die  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten im Atem nach Gabe beider Tracer  $^{13}\text{C}$ -Ampy und  $^{13}\text{C}$ -Coff rasch an, um nach Erreichen eines Peaks mehr oder weniger steil auf Baseline-Niveau abzufallen (Kapitel 5.1 und 5.2). In der Arbeitsanleitung von Wetzel et al. (2001) für diese Atemgastests wird empfohlen, die Tracersubstanz in Wasser gelöst aufnehmen zu lassen. Die Autoren sehen den Vorteil in einer zügigen Magenentleerung der Flüssigkeit und einer damit verbundenen schnellen Resorption der Tracer. (Wetzel und Fischer, 2001).

In den vorliegenden Untersuchungen wurden die Tracersubstanzen zwar unter Nüchtern-Bedingungen eingenommen, jedoch immer zusammen mit dem ersten Bissen des standardisierten Frühstücks und damit in festem Zustand. Leitzmann et al. (1998) machen darauf aufmerksam, dass bei in fester Form aufgenommenen Tracern die An- und Abflutung im Blut geringer ist als bei gelösten Substanzen (Leitzmann et al., 1998). Es ist deshalb davon auszugehen, dass dies hier der Fall ist. In Folge dessen setzt die Resorption der Testsubstanzen später ein und der Tracer erreicht, ebenfalls verzögert, seinen Abbauort, die Leber. Diese verlangsamte Wirkung der Tracer zeigt sich in den DOB-Graphen in geringeren Anstiegen und verzögerten Peaks.

Lange Messreihen können nach Schoeller et al. (1982) vermieden werden, da sich die größte Sensitivität eines Atemtestes in den Atemproben kurz nach der Tracereinnahme einstellt (Schoeller et al., 1982). Da die Tracereinnahme jedoch zusammen mit fester Nahrung erfolgte, wurde im Vorfeld der Untersuchungen festgelegt, dass eine insgesamt 8-stündige Probeentnahme zu erfolgen hat, um auch eventuelle Verzögerungen durch die verlangsamte Wirkung zu erfassen.

**Tabelle 5: Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin unter Koffeinabstinenz**

Probanden	DOB Peak Durchschnitt [‰]	Zeit bis Peak [min]	KPEx [%]
Raucher	11,00	90	20,36
Nichtraucher	9,25	105	22,56

**Tabelle 6: Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter  $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein unter Koffeinabstinenz**

Probanden	DOB Peak Durchschnitt [‰]	Zeit bis Peak [min]	KPEx [%]
Raucher	4,76	120	15,24
Nichtraucher	3,20	105	9,31
Gesamt	3,61	105	11,05

**Tabelle 7: Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter  $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein unter Koffeinkonsum**

Probanden	DOB Peak Durchschnitt [‰]	Zeit bis Peak [min]	KPEx [%]
Raucher	3,56	120	11,98
Nichtraucher	2,82	150	10,13
Gesamt	3,06	150	10,71

### 6.2.2 Einfluss von Koffein auf die Entgiftungsfunktion der Leber

Zur Untersuchung des Einflusses von Koffein auf die Entgiftungsfunktion der Leber wurde in dieser Studie das Substrat  $^{13}\text{C}$ -Coff genutzt. Es wurde geprüft, ob ein Unterschied in der mikrosomalen Stoffwechselleistung der Leber in einer Phase der KA im Vergleich mit einer Phase des KK nachzuweisen ist. Caubet et al. zeigten 2002, dass  $^{13}\text{C}$ -Coff als Tracersubstanz geeignet ist, im Sinne von Inhibitoren oder Induktoren für das CYP1A2-Enzym zu wirken. So konnten sie mittels CAT belegen, dass das Rauchen von Zigaretten eine Induktion des CYP1A2-Enzyms bewirkt und orale Kontrazeptiva dieses Enzym inhibieren. Bei diesem Test waren jedoch keine signifikanten Differenzen zwischen Probanden unterschiedlichen Geschlechts zu erkennen. (Caubet et al., 2002) In der vorliegenden Studie wird dieser Nachweis, trotz geringer Probandenzahlen, signifikant erbracht. Nach  $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe kann signifikant zwischen Männern und Frauen unterschieden werden - sowohl unter KK (DOB-Werte mit  $p = 0,04$ ) als auch unter KA (DOB-Werte mit  $p = 0,02$ ; KPEx ab  $t = 3,00$  h mit  $p = 0,03$ ). Damit ist eine erhöhte Enzymaktivität bei Männern unter KA und KK belegt.

Um zu untersuchen, ob das Koffein Induktor oder Inhibitor des CYP1A2-Enzyms ist, wurden 17 Probanden während einer KA-Phase von mindestens 3 bis maximal 14 Tagen getestet. Um festzustellen, ob ein Unterschied in der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und in



der KPEx vor und nach dem KK nachweisbar ist, führten 15 Probanden im Anschluss an die KA den CAT nach einem 7-tägigen KK mit täglich mindestens 6 Tassen Kaffee durch. Bei einer Probandin musste der KK körpergewichtsadaptiert auf 4 Tassen pro Tag begrenzt werden.

Caubet et al. (2002) wiesen nach, dass das Nikotin einen induzierenden Einfluss auf die Aktivität des CYP1A2-Enzyms hat. Deshalb wird in der vorliegenden Studie unter den Probanden nach R (n = 5) und NR (n = 12) differenziert, um zu prüfen, ob die Induktion auf das Enzym durch das Nikotin auch unter KA und KK erfolgt. In Anlehnung an Caubet et al. (2002) werden die Testergebnisse ebenfalls zwischen den Geschlechtern verglichen.

Bei den statistischen Berechnungen der hier ausgewerteten Testergebnisse sind 8 signifikante Differenzen in den DOB-Werten und 10 signifikante Differenzen in der KPEx nachgewiesen worden. Drei der 10 Signifikanzen in der KPEx ergeben sich im AAT, die restlichen statistischen Sicherungen erfolgten ausschließlich im CAT (Tab. 4). Eine Ursache ist sicher in der geringen Probandenanzahl zu sehen. Caubet et al. (2002) testeten in ihrer Studie 110 Probanden, von denen 46 männlich und 64 weiblich waren. In beiden Gruppen waren R und NR in etwa gleicher Anzahl vertreten: 24 NR, 22 R, 44 NRF, von denen 20 orale Kontrazeptiva einnahmen, sowie 20 RF. In der vorliegenden Studie konnten nur 5 R (3 Frauen und 2 Männer) und 12 NR (6 Frauen und 6 Männer) rekrutiert werden.

Eine weitere Ursache für die wenigen Signifikanzen im AAT in den eigenen Untersuchungen könnten zu kurze bzw. unterschiedliche Koffein-wash-out-Phasen der einzelnen Probanden sein.

### **6.2.3 Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter Koffeinabstinenz und Koffeinkonsum**

Nach Gabe des  $^{13}\text{C}$ -Coff-Tracers wird der DOB-Peak der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit aller Probanden unter KA 45 min früher erreicht als unter KK und fällt deutlich höher aus (KK 3,06 ‰ vs. KA 3,61 ‰, Abb. 13). Der Tracer wurde somit unter KA früher und in größerer Menge metabolisiert als bei KK. Unter Koffeinfluss scheint demnach eine Inhibition des CYP1A2-Enzyms vorzuliegen. Eine Signifikanz wird jedoch nicht ausgewiesen (p = 0,35).

Betrachtet man unter diesem Gesichtspunkt die KPEx, so erkennt man, dass unter KA aller Probanden eine minimal höhere KPEx zu verzeichnen ist (KK 10,71 % vs.

KA 11,05 %, Tab. A2). Dies lässt ebenfalls drauf schließen, dass unter KK in der Leber kein höherer Anteil des zu verstoffwechselnden Tracers abgebaut wird. Das bedeutet, dass Koffein keinen induzierenden Einfluss auf das CYP1A2-Enzym hat. Die Testergebnisse lassen erkennen, dass es unter KK zu einer leichten Enzymhemmung kommt.

#### **6.2.4 Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit vor und nach Koffeinkonsum bei Nichtrauchern**

Da unter den 17 Probanden mehr als doppelt so viele NR (12) als R (5) an den Testreihen teilnahmen, gleichen die Graphen der gesamten Kohorte der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit (Abb. 13) denen der NR (Abb. 14).

Auch hier ist der Zeitpunkt des Erreichens des DOB-Peaks in der KA-Phase bereits 45 min vor dem DOB-Peak unter KK zu verzeichnen, jedoch unterscheiden sich die Höhen der mittleren DOB-Peaks nur noch geringfügig (3,20 ‰ vs. 2,82 ‰, Abb. 14). Dieses Ergebnis relativiert die oben aufgestellte Vermutung, denn die Kurvenverläufe zeigen, dass der KK bei NR offensichtlich nur einen geringen Einfluss auf die Entgiftungsfunktion der Leber hat. Beide Graphen weichen minimal voneinander ab. Im Anstieg differieren sie von Zeitpunkt  $t = 1,00$  bis  $t = 2,00$  h und im Abfall erst ab  $t = 3,5$  h. Am Ende des Testtages nähern sich die Mittelwerte der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit einander wieder an ( $p = 0,38$ ).

#### **6.2.5 Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation vor und nach Koffeinkonsum bei Rauchern**

Da sich vor und nach KK die Gehalte an  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeiten von R in ihrer Höhe deutlich unterscheiden, wurden hier signifikante Differenzen ermittelt (Abb. 15, Tab. 4 und A1) ( $p = 0,009$ ). Der Peak der DOB-Mittelwert wird zum selben Zeitpunkt ( $t = 2,00$  h) erreicht, allerdings ist der maximale DOB-Mittelwert unter KA bei den R mit 4,76 ‰ um 1,2 ‰ höher als unter KK. Erst nach  $t = 6,50$  h nähern sich die Mittelwerte einander an. Der Unterschied wird auch bei der Betrachtung der KPEx deutlich (Tab. A2). Unter KA erreicht die Gruppe der R-Probanden einen um 3,26 Prozentpunkte höheren max. Exhalationswert als unter KK vom Zeitpunkt  $t = 3,00$  h an sind die Ergebnisse statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ). Daraus ist abzuleiten, dass der KK bei R eine Enzymhemmung hervorruft. Sowohl Schumacher et al. (1992) als auch Caubet et al. (2002) zeigen jedoch, dass das Rauchen von Zigaretten eine Enzyminduktion bewirkt (Schumacher et al., 1992, Caubet et al., 2002). Da bei NR unter KK

keine Enzymhemmung gezeigt werden kann, stellt sich die Frage, warum sich bei rauchenden Probanden in dieser Studie eine hemmende Enzymaktivität zeigt. Möglicherweise übt das Koffein eine geringe, aber dominant hemmende Wirkung auf das CYP1A2-Enzym aus, die durch das Nikotin verstärkt wird. Beide Substanzen sind Alkaloide und scheinen sich gegenseitig zu beeinflussen. Auf dieses Phänomen wird in der Literatur in verschiedenen Zusammenhängen aufmerksam gemacht. So wird festgestellt, dass R mehr Kaffee konsumieren als NR (Swanson et al., 1994). Die Koffein-Plasma-Konzentration von R ist bei gleichem KK 2 bis 3 mal niedriger als die von NR (Leon et al., 1995). Nach einer Nikotinabstinenz erhöht sich die Koffein-Plasma-Konzentration wieder (Benowitz et al., 1989). Smith und Stolerman (2009) beschreiben Wechselwirkungen von Nikotin, Koffein und Cannabinoiden. Sie vermuten, dass diese Substanzen gegenseitig als „gateway“ fungieren und damit das Suchtverhalten beeinflussen. (Swanson et al., 1994, Smith und Stolerman, 2009)

Die polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe des Tabakrauches scheinen ein Induktor des CYP1A2 zu sein, welches einen entscheidenden Anteil am Metabolismus des Koffeins hat (Bertz und Granneman, 1997).

### **6.3 Differenzen in der $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit und der kumulativen prozentualen $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation zwischen Männern und Frauen**

In den vorliegenden Untersuchungen zeigen sich zum Teil signifikante Differenzen hinsichtlich der Entgiftungsfunktion der Leber zwischen F und M (KA, AAT KPEx: F 20,87 % vs. M 23,09 %). In der vorliegenden Studie sind die Differenzen in den DOB-Werten zwischen F und M im AAT nicht statistisch gesichert, was Caubet et al. (2002) mit der Berechnung der AUC gelang, jedoch konnte eine Signifikanz in der KPEx zum Zeitpunkt  $t = 6,50$  h ermittelt werden ( $p = 0,04$ ).

Damit bestätigen sich die Ergebnisse von Caubet et al. (2002) hinsichtlich einer geschlechtsspezifischen Differenzierungsmöglichkeit mit dem AAT z.B. bei einer Doppelblindstudie. Aber auch mit dem CAT ist dies möglich. Caubet et al. (2002) konnten hier keine Signifikanzen nachweisen. Trotz geringer Probandenzahl gelang der Nachweis in der vorliegenden Arbeit. Es zeigen sich signifikante Differenzen in den DOB-Werten zwischen M und F sowohl unter KK mit  $p = 0,04$  (ab  $t = 0,50$  h) (Tab. 4) als auch über den gesamten Testzeitraum unter KA mit  $p = 0,02$ . Unter KA wird außerdem eine Signifikanz in der KPEx ab  $t = 3,00$  h von  $p = 0,03$  ausgewiesen.

## **6.4 Einfluss von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber**

### **6.4.1 Wirkung von Nikotin auf das zentrale und periphere Nervensystem**

Nikotin erreicht innerhalb von ca. 10 Sekunden nach dem Inhalieren des Tabaks das Nervensystem, wo es seine Wirkung entfaltet. Sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem stimuliert Nikotin auf zellulärer Ebene den nicotinischen Acetylcholin-Rezeptor, welcher sich in den parasympathischen und sympathischen Ganglien, im Nebennierenmark, im Zentralnervensystem und an den motorischen Endplatten befindet. Im Gehirn ist dieser Rezeptor an den präsynaptischen Nervenendigungen von Dopamin, Acetylcholin und Glutamat freisetzenden Neuronen lokalisiert. Wird der Rezeptor stimuliert, kommt es zur erhöhten Neurotransmitterfreisetzung. Dies hat zur Folge, dass bei Nikotinkonsum die Dopaminkonzentration im limbischen System steigt, welches eine stimulierende und antidepressive Wirkung zur Folge hat. Nikotin fördert außerdem die Ausschüttung des Hormons Adrenalin. Dadurch hat es in niedrigen Mengen einen stimulierenden Effekt. (Pontieri et al., 1996, Zagermann-Muncke, 2004, Frings, 2005, DKFZ, 2014)

### **6.4.2 Wirkung des Nikotins im menschlichen Organismus**

Beim Rauchen einer Zigarette kann es zu einer schnell einsetzenden Übelkeit kommen, worauf ein komplexes und dosisabhängiges instabiles Symptombild folgt. Durch die oben beschriebene ganglionäre Stimulation lösen niedrige Dosen des Nikotins eine Blutdrucksteigerung, Magensaftsekretion und gastrointestinale Tonuserhöhung aus. Hohe Dosen hingegen bewirken eine Effekturnkehrung. Der Körper reagiert mit Blutdrucksenkung, Magen-Darm-Atonie und Gefäßverengung. Nikotin zählt zu den kardial assoziierbaren Risikofaktoren. (Herbig, 1942, Gasic und Waldhäusl, 2000, Zagermann-Muncke, 2004, DKFZ, 2014)

Zu den möglichen Symptomen des Zentralnervensystems zählen der feinschlägige Tremor und die Atemstimulation. Bei starker Dosissteigerung kann diese Wirkung zu Krämpfen und zentraler Atemlähmung führen, wobei eine oral eingenommene Dosis von 40 bis 60 mg reinem Nikotin tödlich sein kann. (Barta und Friederich, 2000)

Die Therapie einer möglichen Überdosierung erfolgt zunächst symptomatisch mit zum Beispiel Benzodiazepinen bei Krämpfen. Eine primäre Dekontamination kann mit Aktivkohle erfolgen. Atropin kann als Antagonist an den Muskarinrezeptoren bei schweren Vergiftungen zum Einsatz kommen, so wie auch Biperiden, welches eine zentrale anticholinerge Wirkung hat. (Graefe et al., 2011)

Da Caubet et al. (2002) eine ähnliche Studie zum Einfluss von Nikotin mit den Tracern  $^{13}\text{C}$ -Ampy und  $^{13}\text{C}$ -Coff durchführten, werden im folgenden Abschnitt deren Schlussfolgerungen den eigenen gegenübergestellt. Caubet et al. (2002) weisen ihre Ergebnisse als AUC (area under curve) aus, was nur einen indirekten Vergleich mit den DOB-Werten dieser Studie zulässt. Die AUC errechnet sich aus der DOB.

Es muss jedoch beachtet werden, dass Caubet et al. (2002) keine Angaben zu den KPEX-Werten machen. Da die Testdauer in den Untersuchungen von Caubet et al. (2002) nur 180 min, also 3 h, betrug, können keine Aussagen zu möglichen Endwerten der KPEX getroffen werden, da sich signifikante Differenzen erst nach mindestens 6,50 h Testdauer zeigen.

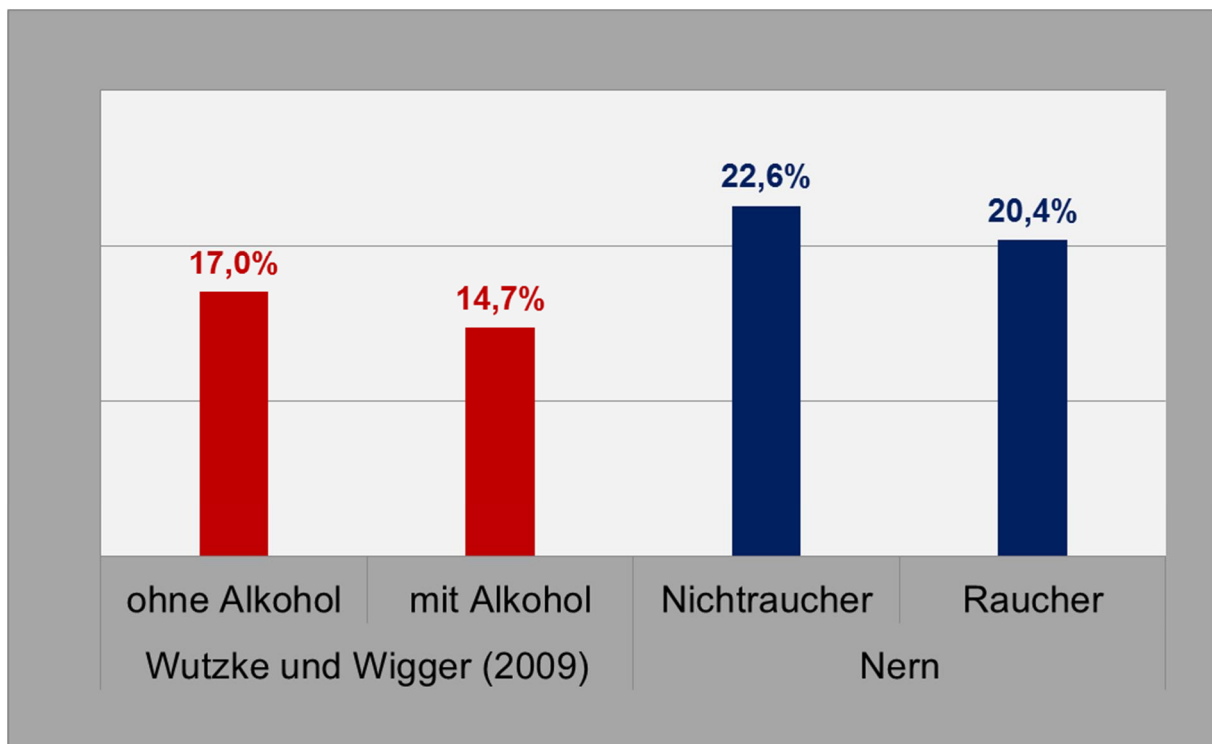
#### **6.4.3 Nutzung des [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Atemtests für die Untersuchung des Einflusses von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber**

In der vorliegenden Testreihe mit  $^{13}\text{C}$ -Ampy wurde kein signifikanter Unterschied zwischen R und NR hinsichtlich der Entgiftungsfunktion der Leber in den DOB-Werten nachgewiesen (Tab. 4). Tendenziell kann jedoch von einer Validierung der Ergebnisse von Caubet et al. (2002) ausgegangen werden. Die Atemgasteste der R ergaben frühere und deutlich höhere DOB-Peaks im Vergleich mit denen der NR (R t = 1,50 h; 11,0 ‰ vs. NR t = 1,75 h; 9,25 ‰, Abb. 10, Tab. A1), was die Enzyminduktion durch Nikotin bestätigt.

Die Graphen in der Abbildung 10 zu der KPEX von NR und R nach  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Einnahme zeigen eine zunächst höhere KPEX bei den R. Im zeitlichen Verlauf schneiden sich jedoch beide Kurven, sodass die KPEX an den Testtagen nach t = 8,00 h bei den R im Mittel mit 20,36 % unterhalb der KPEX der NR (22,56 %) endet (Abb. 10). Dies lässt die Interpretation zu, dass durch das Nikotin zunächst eine Enzyminduktion des CYP1A2 erfolgt. Im weiteren Verlauf nimmt diese Enzyminduktion jedoch ab, sodass am Ende eine Hypoaktivität, also eine Hemmung der Mikrosomen (Gressner und Arndt, 2013), stattfindet. Zum Zeitpunkt t = 7,00 h ist die Differenz zwischen NR und R in der KPEX signifikant (p = 0,05). Entgegen der Schlussfolgerung von Caubet et al. (2002), deutet der AAT hier eine Enzyminhibition durch Nikotin an. Eine Umkehr der Enzymaktivität lässt sich im Kurvenverlauf zum Zeitpunkt t = 5,50 h erkennen. Damit erklärt sich auch der weitere Verlauf der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeits-Zeitkurve, der zwischen den Zeitpunkten t = 3,50 bis 4,00 h einen

Schnitt der Graphen zeigt, danach liegt die Kurve der Raucher unterhalb des Graphen der NR (Abb. 10).

In Abbildung 29 werden KPEx-Werte aus Untersuchungen von Wutzke und Wigger (2009) mit den eigenen Ergebnissen verglichen. Beide Studien vergleichen den Einfluss von Suchtmitteln auf die Entgiftungsfunktion der Leber über  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests mit dem Tracer  $^{13}\text{C}$ -Ampy. Es zeigt sich, dass bei den Probanden unter Abstinenz jeweils höhere Endwerte ausgewiesen werden. Die Differenz der Endwerte beträgt bei beiden Studien 2,3 bzw. 2,2 %, was eine hohe Übereinstimmung der Messergebnisse belegt und die Relevanz des AAT für die Diagnostik unterstreicht.



**Abbildung 29: Vergleich der prozentualen kumulativen Exhalation (KPEx in %) nach  $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe ohne und mit Alkoholkonsum (Wutzke und Wigger, 2009) sowie ohne und mit Nikotin-Konsum (Nichtraucher vs. Raucher)**

#### **6.4.4 Nutzung des [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemtestes für die Untersuchung des Einflusses von Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber**

Park et al. zeigten 2003, dass man mit dem CAT in der Lage ist, zwischen R zu differenzieren, die gesund sind, eine Hepatitis haben oder bei denen sogar eine Leberzirrhose besteht. Die Werte der erkrankten R lagen 53 bis 69 % über denen der NR. Bei der Kontrollgruppe lagen die R 50 % über den NR. (Park et al., 2003)

In den eigenen Untersuchungen unter KA bei gesunden Probanden beträgt die relative Differenz 37 %. Unter KK sinkt die Differenz auf 17 %.

Caubet et al. (2002) ermittelten mit  $^{13}\text{C}$ -Coff eine signifikante Differenz zwischen R und NR. In den vorliegenden Untersuchungen konnte die Signifikanz in den DOB-Werte bestätigt werden ( $p = 0,0001$  KA;  $p = 0,05$  KK) (Tab. 4). Bei den R tritt der DOB-Peak erst 15 min nach dem NR-DOB-Peak auf, ( $t = 2,00$  h vs.  $t = 1,75$  h), allerdings unterscheiden sich die jeweiligen Spitzen-DOB-Werte deutlich in der Höhe (NR 3,20 ‰ vs. R 4,76 ‰, Abb. 19, Tab. A1). Beide DOB-Mittelwerte fallen nach den Peaks mit Differenzen zwischen 1,61 ‰ ( $t = 0,75$  h) und 1,9 ‰ ( $t = 3,50$  h) stetig ab. Erst zum Ende des Testes ( $t = 8,00$  h) kommt es zu einer Annäherung der Mittelwerte, sodass nur noch eine Differenz von 0,38 ‰ zu verzeichnen ist. Dieser Verlauf zeigt eine Enzyminduktion, die mit hoher Wahrscheinlichkeit durch das Nikotin hervorgerufen wird, was konform mit den Untersuchungsergebnissen von Caubet et al. (2002) geht. Auch die KPEx bestätigen diese Aussage in ihrem Verlauf (Abb. 19, Tab. A2). Diese KPEx ist statistisch signifikant ( $p = 0,05$  KA;  $p = 0,05$  ab  $t = 5,00$  KK). Die KPEx-Kurve der R liegt zu jedem gemessenen Zeitpunkt über der der NR, was auch hier eine Hyperaktivität der Mikrosomen belegt.

#### **6.4.5 Differenzierung zwischen Männern und Frauen durch den $[^{13}\text{C}_3]$ Aminopyrin-Atemtest**

Die Gegenüberstellung der Ergebnisse von M und F zeigt nur zum Teil eine signifikante Differenzierung durch den AAT. Die Enzymaktivität bei F setzt nach Einnahme des Tracers früher ein als bei M (F  $t = 1,50$  h vs.  $t = 2,00$  h, Abb. 16) bei denen die Enzyminduktion jedoch stärker wirkt, sodass deren DOB-Peak deutlich höher ausfällt als der maximale DOB-Mittelwert der Frauen (F 6,12 ‰ vs. M 10,78 ‰). Auch Caubet et al. (2002) leiten aus ihren Untersuchungen die Möglichkeit einer Differenzierung nach dem Geschlecht der Probanden durch den AAT ab, diese Unterschiede waren im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit in der AUC signifikant (Tab. 4). Wie oben erwähnt, konnte dafür eine Signifikanz in der KPEx zu den Zeitpunkten  $t = 6,50$  und  $7,00$  h ermittelt werden, was die Ergebnisse von Caubet et al. (2002) bestätigt.

#### **6.4.6 Ursachen für Abweichungen in der Enzymaktivität im [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Test zu der Vergleichsstudie von Caubet et al. (2002)**

Während Caubet et al. (2002) einen 7-tägigen Medikamentenverzicht von den Probanden forderten, wurde in der vorliegenden Studie über eine leere Medikamentenanamnese eine längere wash-out-Phase abgesichert. Die Probanden bestätigten zudem einen mehr als 48-stündigen Alkoholverzicht.

An den Testtagen der vorliegenden Untersuchungen nahmen die Teilnehmer ab 00:00 Uhr bis Testbeginn keine Nahrung auf. Damit liegt die Nüchtern-Zeitdauer 2 h unter der von der Vergleichsstudie mit insgesamt 10 h.

Weitere Unterschiede im Versuchsaufbau liegen in der Darreichungsform und der verabreichten Tracermenge. Für die eigenen Testreihen nahmen die Probanden 2,00 mg  $^{13}\text{C}$ -Ampy je kg Körpergewicht (KG) auf. Caubet et al. (2002) berechneten die Tracermenge für Gewichtsspannen von 15 kg KG der Probanden und applizierten 1,75 bis 2,3 mg/kg KG (45-60 kg KG => 105 mg  $^{13}\text{C}$ -Ampy; 60-75 kg KG => 135 mg  $^{13}\text{C}$ -Ampy; 75-90 kg KG => 165 mg  $^{13}\text{C}$ -Ampy).

Die Tracermengen wurden in gelöster Form (50 ml Lösung) appliziert und nicht, wie in dieser Studie, in fester Form. Die Applikationsform (flüssig vs. fester Nahrung) beeinflusst jedoch die Anflutung des Tracers im Blut und deren Resorption (Leitzmann et al., 1998). Dies zeigt sich im Anstieg des  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit im Atem nach Tracereinnahme und der Höhe des Peaks der  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit. Die Darreichungsform des Tracers sollte jedoch, wie oben beschrieben, keinen Einfluss auf den Abfall der DOB-Werte im weiteren Tagesverlauf haben.

Ein weiterer Unterschied im Versuchsaufbau der beiden Studien ist in der over-cross-Strategie zusehen. Während Caubet et al. (2002) alle Probanden zuerst den CAT durchführen ließen und zwei Tage später den AAT, fand in der vorliegenden Arbeit ein Wechsel in der Reihenfolge statt. Etwa die Hälfte aller Probanden begannen mit dem AAT und die andere Hälfte mit dem CAT. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass Interaktionen der Tracersubstanzen die Testergebnisse beeinflusst haben.

Ein wesentlicher Unterschied in der Versuchsdurchführung ist in der Dauer der Probenahme und damit der Anzahl der Beobachtungen je Testtag zu sehen. Caubet et al. (2002) nahmen nur über einen Zeitraum von 3 h die Atemgasproben, während in der vorliegenden Studie jeder Testtag über insgesamt 8 h verlief. Wie in Kapitel 6.4.3 zur Nutzung des AAT für die Untersuchung des Einflusses von Nikotin auf die Entgif-



tungsfunktion der Leber beschrieben wird, überschneiden sich die Graphen der DOB-Mittelwerte erst zum Zeitpunkt  $t = 2,50 \text{ h}$  (Abb. 10). Somit findet der Wechsel von der Enzyminduktion zur Enzymhemmung zu einer Zeit statt, als die Testreihe von Caubet et al. (2002) bereits beendet wurde.

In den vorliegenden Untersuchungen sind wegen der geringeren Probandenanzahl nur einige Differenzen signifikant (Tab. 4). In der Vergleichsstudie von Caubet et al. (2002) sind dagegen die Ergebnisse im AAT größtenteils statistisch gesichert.

## **6.5 Praxisrelevanz von Atemgastests**

Beide in dieser Arbeit verwendeten Atemgastests zeichnen sich durch ihre Nicht-Invasivität aus. Besonders in der Diagnostik von Kindern stellen sie dadurch eine schonende Möglichkeit zur Untersuchung der Leberfunktion dar.

Des Weiteren ist es von Vorteil, dass mit beiden getesteten Tracersubstanzen Untersuchungen möglich sind, die eine Beurteilung von dynamischen Stoffwechselvorgängen erlauben. Diese mikrosomalen Stoffwechselvorgänge können nicht durch Blutuntersuchungen (Bestimmung der Leberenzyme), CT, MRT oder gar Leberbiopsien nachgewiesen werden. Somit haben die Atemgastests einen hohen Stellenwert in der klinischen Diagnostik und der medizinischen Forschung erlangt.

### **6.5.1 Praxisrelevanz des [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Atemgastests**

Die in dieser Studie benutzte Menge des  $^{13}\text{C}$ -Ampy von 2,00 mg je kg KG ist ausreichend, um  $^{13}\text{CO}_2$ -Messungen mit hinreichender Genauigkeit durchführen zu können. In Bezug auf die Entgiftungsfunktion der Leber wird dargestellt, dass dieser Atemgastest eine hohe Zuverlässigkeit erreicht, um eine geschädigte Leber zu diagnostizieren.

Bezüglich der Differenzierung zwischen NR und R zeigen Caubet et al. (2002) Unterschiede in den Messwerten, die in dieser Arbeit ebenfalls teilweise statistisch gesichert werden konnten. Allerdings ergaben die Messwerte dieser Arbeit eine Enzymhemmung bezüglich des Nikotineinflusses auf die Leber, wohin gegen Caubet et al. (2002) eine Enzyminduktion nachwiesen. Eine statistische Sicherung wird bezüglich der Geschlechtsdifferenzierung in dieser Studie mit dem AAT bestätigt.  $^{13}\text{C}$ -Ampy ist somit als Testsubstanz geeignet, um den Einfluss auf die Aktivität des CYP1A2-Enzyms darzustellen.

### **6.5.2 Praxisrelevanz des [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemgastests**

Trotz der geringen Menge an Substrat, in diesem Fall 1,00 mg/kg Körpergewicht, bei allerdings 3  $^{13}\text{C}$ -markierten Methylgruppen, wird in beiden Testreihen mit  $^{13}\text{C}$ -Coff eine ausreichend hohe  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit erreicht. In der vorliegenden Arbeit ist der Einfluss von Nikotin auf die Enzymaktivität der Leber signifikant und bestätigt somit die Erkenntnisse von Caubet et al (2002) und Schumacher et al (1992), sodass zusätzlich gezeigt werden konnte, dass auch Koffein die Entgiftungsfunktion der Leber beeinflusst.

## **6.6 Interaktionen zwischen Tracern**

Anhand der in dieser Studie benutzten Parameter (z.B. KPEX) ist es möglich, die Leberfunktionseinschränkung quantitativ zu erfassen, wobei die absolute und/oder funktionelle Reduktion der CYP450-Proteine die pathophysiologische Grundlage für die Änderung des  $^{13}\text{C}$ -Metabolismus und damit der KPEX bildet.

Bei Verwendung der  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemteste ist darauf zu achten, beeinflussende Störfaktoren so gering wie möglich zu halten. Dies beginnt bei der Ernährung der Testperson. In dieser Studie wurde sowohl auf den C4-Pflanzen-Anteil (mit erhöhtem  $^{13}\text{C}$ -Anteil) in der Nahrung (Swart und van den Berg, 1998, Dubuc et al., 2000) als auch auf die Vermeidung von kohlenensäurehaltigen Getränken während der Untersuchungsphase geachtet. Aufgrund der langen Testdauer (8 h) konnte jedoch nicht auf eine Nahrungsaufnahme während der gesamten Testtages verzichtet werden. (Ghoos, 1993)

Obwohl im Vorfeld der Atemgastests unter KK bekannt war, dass das Rauchen während der Testphase die Ergebnisse verfälschen kann (Schoeller et al., 1977, Ghoos, 1993), war dies bei der R-Gruppe erforderlich, da der Nikotinkonsum ein wesentlicher Aspekt dieser Studie ist. An diesem Punkt soll auch angemerkt werden, dass bei R langfristig eine erhöhte CYP 1A2-Aktivität nachgewiesen werden konnte (Schrenk et al., 1998, Chang und Kam, 1999), was selbst bei Nikotinverzicht nur am Testtag zu einer Verfälschung der Vergleichswerte geführt hätte.

Bei allen  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemtesten gibt es das Problem des sogenannten "black box"-Models. Danach müssten Veränderungen in Geschwindigkeit und Menge an ausgeatmetem  $^{13}\text{CO}_2$  nicht nur durch Einflüsse des Zielorgans erklärt werden, sondern auch durch vor- und nachgeschaltete Stoffwechselschritte. Man erlangt jedoch keinen Einblick in die Vorgänge im Metabolismus, die den Wert eines  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemtest beeinflussen können, wie z.B. Aufnahme von Nahrung und Tracer, Magenentlee-

rung, Absorption, Transport zur Leber und zu anderen Organen und die Ausatmung von  $^{13}\text{CO}_2$ . Es ist deshalb auch nicht möglich, endogene und exogene interferierende Einflüsse zu korrigieren (Rating und Langhans, 1997). Sie müssen bei der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse der Atemteste jedoch berücksichtigt werden.

An dieser Stelle sei noch erwähnt, dass Pijls et al. (2014) in einer kritischen Betrachtung darauf hinweisen, dass unter den Substanzen, die zur Beurteilung der metabolischen Leberkapazität benutzt werden, keine ideal geeignet sind (Pijls et al., 2014). Sowohl  $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin als auch  $[^{13}\text{C}]$ Methacetin können für die Beurteilung der Kapazität mikrosomaler Leberfunktionen eingesetzt werden, um Patienten mit einer chronischen Lebererkrankung zu untersuchen. Scheinbar spielt jedoch das Enzym CYP2C19 eine wichtige Rolle in der N-Demethylierung des  $^{13}\text{C}$ -Ampy. Ein Polymorphismus des Gens von CYP2C19 kann über diesen Weg die Ergebnisse des AAT beeinflussen. Dies sollte bei der Bewertung der Ergebnisse in Betracht gezogen werden.

## 7 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Nikotin und Koffein sind zwei Substanzen, die im Alltag vieler Menschen eine große Rolle spielen. Der tägliche Konsum ist gesellschaftsfähig und weit verbreitet. Daher sind die Wirkungen auf und vor allem Wechselwirkungen beider Substanzen im menschlichen Organismus für die Medizin von hoher Bedeutung.

Mit Hilfe von nicht-invasiven  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests, die den dynamischen Verlauf von Entgiftungs- und Stoffwechselfunktionen der Leber darstellen können, wird in dieser Arbeit der Einfluss von Koffein und Nikotin auf die Entgiftungsfunktion der Leber untersucht. Dazu wurden gesunde Probanden rekrutiert, die sich im Merkmal Nikotinabstinenz vs. Nikotinkonsum unterschieden. Die Probanden durchliefen jeweils drei Testtage mit Phasen des Koffeinkonsums und der Koffeinabstinenz.

Bei der Rekrutierung der Probanden stellte sich heraus, dass Nichtraucher problemlos für eine definierte Zeit auf Koffein verzichten können. Es fällt ihnen aber schwer, große Mengen Kaffee zu konsumieren, wenn sie normaler Weise keinen Kaffee trinken. Bei Rauchern dagegen stellt sich das Suchtverhalten kooperativ dar. Raucher, die auch regelmäßig Kaffee konsumieren, können nicht auf die tägliche Zufuhr von Koffein verzichten. Über einen gewissen Zeitraum größere Mengen Kaffee zu trinken, ist für Raucher hingegen problemlos möglich.

Um die mikrosomale Stoffwechselfunktion der Leber beurteilen zu können, wurden für die Atemgastests die Tracer  $[^{13}\text{C}_3]\text{Coffein}$  ( $^{13}\text{C}$ -Coff) und  $[^{13}\text{C}_2]\text{Aminopyrin}$  ( $^{13}\text{C}$ -Ampy) eingesetzt. Nachdem die Null-Probe des Atems für die Ermittlung des Leerwertes gewonnen wurde, erfolgte während eines standardisierten Frühstücks zu Beginn eines Testtages die Tracer-Einnahme. Im Ergebnis der Untersuchungen aller drei Testtage wurden die Mittelwerte der Probanden für den Parameter Delta over Baseline (DOB) im Verlauf des Testtages, die Zeit des Erreichens und die Höhe des DOB-Peaks sowie die kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation (KPEX) berechnet und grafisch dargestellt.

Im Vergleich der Raucher und Nichtraucher mittels  $[^{13}\text{C}_3]\text{Coffein}$ -Atemgastest (CAT) wurden signifikante Differenzen nachgewiesen, die eine Enzyminduktion belegen. Aufgrund intraindividuelle Unterschiede war im  $[^{13}\text{C}_2]\text{Aminopyrin}$ -Atemgastest (AAT) die Möglichkeit erkennbar, dass sich die Enzyminduktion nach einer gewissen Zeit in eine Enzymhemmung umkehren könnte. Auf Grund der geringen Probandenanzahl dieser Studie sollte diese beobachtete Aktivitätsumkehr validiert werden.

Eine geschlechtsspezifische Unterscheidung von Untersuchungsergebnissen anhand eines Atemgastestes zeigt sich signifikant in den DOB-Werten bei Einsatz des  $^{13}\text{C}$ -Coff sowohl unter Koffeinkonsum als auch unter Koffeinabstinenz und zum Teil bei dem AAT, die jedoch in den DOB-Werten nicht statistisch gesichert werden konnte. Zu den Testzeiten von  $t = 6,50$  und  $7,00$  h wird auch in der KPEx eine signifikante Differenzierung von Männern und Frauen beobachtet, weshalb bei Atemgastests generell eine Testdauer über mindestens 6,5 Stunden empfohlen wird.

In der vorliegenden Arbeit wird neben dem Einfluss des Nikotins auch der Koffeineinfluss auf die Leber untersucht. Es wird zunächst gezeigt, dass unter Koffeinkonsum eine geringe Enzymhemmung erfolgt, da es zu einer verminderten  $^{13}\text{CO}_2$ -Häufigkeit unter Koffeinaufnahme kam. Um diese Aussage zu differenzieren, werden die Ergebnisse nach Nichtrauchern und Rauchern getrennt ausgewertet. Dabei zeigt sich, dass bei Nichtrauchern eine minimale Enzyminduktion durch den Koffeinkonsum erfolgt. Bei Rauchern wird dagegen eine signifikante Enzymhemmung nachgewiesen.

Mit diesen Resultaten deutet sich eine Interaktion zwischen Zigaretten- und Kaffeeconsum im Einfluss auf die mikrosomale Entgiftungsfunktion der Leber an. Das lässt den Schluss zu, dass der Koffeinkonsum bei einem zusätzlichen Einfluss des Nikotinkonsums hemmend auf die Entgiftungsfunktion der Leber wirkt. Da bisher das Nikotin als ein Induktor des CYP1A2-Enzyms der Leber angesehen wird, der entscheidend am Metabolismus des Koffeins beteiligt ist, deuten die Ergebnisse dieser Studie an, dass der Abbaumechanismus des Koffeins eine vorrangige Aufgabe im Stoffwechsel darstellt und somit kompetitiv die Nikotinwirkung verdrängt.

Im Vergleich zwischen Rauchern und Nichtrauchern wurde unter Koffeinkonsum in der Gruppe der Raucher eine höhere kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation festgestellt. Daraus kann geschlossen werden, dass hier eine individuelle Exposition der Raucher eine Rolle spielt. Außerdem wird deutlich, dass komplexe Interaktionen beider Substanzen in der Verstoffwechselung stattfinden. Dies beruht mit hoher Wahrscheinlichkeit auf der Beteiligung weiterer Enzyme des CYP-P-450-Systems an diesem Metabolismus. Wegen der geringen Probandenzahl sollten auch diese möglichen Interaktionen validiert werden.

Bei Arzneimittelverordnungen sollten künftig diese Überlegungen zur Folge haben, dass Patienten explizit nach ihrem Koffeinkonsum und Nikotinbedarf befragt werden. Die Konsequenz sollte eine engmaschige Kontrolle des Wirkstoffspiegels bzw. der klinischen Wirkung der verordneten Medikamente im Einstellungszeitraum sein.

## **8 Thesen**

- 1.  $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein und  $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin sind für den Leberstoffwechsel geeignete, repräsentative Tracersubstanzen, um die mikrosomale Entgiftungsfunktion der Leber mittels eines  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemgastests nicht-invasiv zu beurteilen.**
- 2. Durch die zeitgleiche Aufnahme des Tracers mit fester Nahrung wird die Resorption des Tracers verzögert, was auf eine verlängerte Anflutung im Blut zurückzuführen ist.**
- 3. Daraus ergibt sich, dass nach einer zeitgleichen Aufnahme von Tracer und fester Nahrung, die Atemgasgewinnung zeitlich verlängert erfolgen muss. Es wird empfohlen, eine Testdauer von mindestens 6,50, besser 8 Stunden zu gewährleisten.**
- 4. Durch eine standardisierte Mahlzeit ist der Vergleich der Leberfunktion zwischen Rauchern und Nichtrauchern vor und nach Koffeinkonsum möglich.**
- 5. Bei der Verstoffwechselung der beiden Alkaloide Nikotin und Koffein gibt es eine Vielzahl interindividueller Unterschiede.**
- 6. Innerhalb des Metabolismus von Koffein und Nikotin nimmt das Cytochrom P450-System einen besonderen Stellenwert ein.**
- 7. Nach Gabe von  $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin gibt es zwischen Frauen und Männern signifikante Differenzen bei der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ( $p=0,04$ ), wobei sich bei den Männern erst nach 6,50 Stunden eine signifikante Erhöhung der Enzymaktivität zeigt. Bei der Durchführung eines  $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin-Atemgastests empfiehlt sich daher eine Testdauer von mindestens 6,50 Stunden.**

8. Des Weiteren ist zum Zeitpunkt  $t = 7,00$  h die Differenz zwischen Nichtrauchern und Rauchern in der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation signifikant ( $p = 0,05$ ). Diese Signifikanz zeigt sich auch bei Nichtraucherinnen und Raucherinnen ( $p = 0,05$ ), jedoch nicht bei männlichen Nichtrauchern und Rauchern. Entgegen der Schlussfolgerung von Caubet et al. (2002), deutet der  $[^{13}\text{C}_2]$ Aminopyrin-Atemgastest hier eine Enzyminhibition durch Nikotin an.
9. Raucher zeigen im Vergleich zur Koffeinabstinenz unter Koffeinkonsum nach  $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Gabe eine signifikante Verringerung sowohl der maximalen DOB-Werte ( $p = 0,009$ ) als auch der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ( $p = 0,04$  ab  $t = 5,00$  h), was auf eine Inhibition des CYP1A2 durch Koffein hinweist.
10. Damit hat ein 7-tägiger Koffeinkonsum von 6 Tassen Kaffee pro Tag bei Rauchern einen signifikanten Einfluss auf die mikrosomale hepatische Entgiftungskapazität. Koffein wirkt demnach bei gleichzeitigem Nikotinkonsum hemmend auf die Entgiftungsfunktion der Leber.
11. Im Gegensatz dazu hat ein 7-tägiger Koffeinkonsum von 6 Tassen Kaffee pro Tag bei Nichtrauchern keinen signifikanten Einfluss auf die mikrosomale hepatische Entgiftungskapazität.
12. Bei Rauchern kommt es im Vergleich zu Nichtrauchern unter Koffeinabstinenz und unter Koffeinkonsum nach  $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein-Gabe sowohl zu einer signifikanten Erhöhung der maximalen DOB-Werte ( $p = 0,0001$  bzw.  $p = 0,05$ ) als auch der entsprechenden kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ( $p = 0,05$  bzw.  $p = 0,05$ ).
13. Raucherinnen haben im Vergleich zu Nichtraucherinnen unter Koffeinabstinenz nach Gabe von  $[^{13}\text{C}_3]$ Coffein sowohl signifikant erhöhte DOB-Werte ( $p = 0,0003$ ) als auch eine signifikant erhöhte kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ( $p = 0,04$ ).

14. Männliche Raucher zeigen im Vergleich zu Nichtrauchern unter Koffeinabstinenz nach Gabe von [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein sowohl signifikant erhöhte DOB-Werte ( $p = 0,0001$ ) als auch eine signifikant erhöhte kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ( $p = 0,04$  ab  $t = 0,75$  h).
15. Raucherinnen haben im Vergleich zu Nichtraucherinnen unter Koffeinkonsum nach Gabe von [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein sowohl signifikant erhöhte DOB-Werte ( $p = 0,01$ ) als auch eine signifikant erhöhte kumulative prozentuale  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ( $p = 0,05$ ).
16. Die Thesen 12 bis 15 legen den Schluss nahe, dass Nikotin als Induktor der mikrosomalen Entgiftungskapazität der Leber fungiert.
17. Zwischen Männern und Frauen werden bei den maximalen DOB-Werten ( $p = 0,02$ ) und bei der kumulativen prozentualen  $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation ( $p = 0,04$  ab  $t = 3,00$  h) sowohl unter Koffeinabstinenz als auch in den maximalen DOB-Werten ( $p = 0,04$  ab  $t = 0,50$  h) unter Koffeinkonsum nach der Gabe von [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein signifikante Differenzen nachgewiesen. Dies zeigt die geschlechtsspezifischen Unterschiede bei der Metabolisierung von [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein. Damit ist bei Männern eine erhöhte Enzymaktivität unter Koffeinabstinenz und Koffeinkonsum belegt.
18. Nichtraucher können eine gewisse Zeit auf Koffein verzichten, unabhängig davon, wieviel Kaffee sie gewöhnlich konsumieren. Dagegen ist es für Nichtraucher problematisch, eine große Kaffeemenge zu sich zu nehmen, wenn sie normaler Weise keinen oder wenig Kaffee trinken.
19. Bei Rauchern stellt sich das Suchtverhalten dagegen kooperativ dar. Raucher, die regelmäßig Kaffee konsumieren, können auf die tägliche Zufuhr von Koffein nicht verzichten. Für Raucher ist es jedoch problemlos möglich, über einen gewissen Zeitraum größere Mengen Kaffee zu trinken.



- 20. Die Beurteilung der [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Metabolisierung unter Koffeinabstinenz und Koffeinkonsum stellt ein Novum in der klinischen Forschung dar.**

## 9 Literaturnachweis

- Abraham F, Anderson D, Deschamps J, Firth J, Huismans J: The dictionary of substances and their effects. Northamptonshire (UK) Royal Society of Chemistry, Bugbrooke, 1993: 875
- Abraham K: Veränderungen biologischer Parameter (Immunsystem, Cytochrom P450-System) bei 3 hoch 2,3,7,8,-Tetrachloridibenzo-p-dioxin (TCDD)-exponierten Personen aus Wien. Programm Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung, Forschungsberichtsblatt BWB20002.pdf, Berlin: Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie, Charité, Humboldt-Universität. 2002
- Adler M, Verset D, Bouhdid H, Bourgeois N, Gulbis B, Lemoine O, Van De Stadt J, Gelin M, Thiry P: Prognostic evaluation of patients with parenchymal cirrhosis. Proposal of a new simple score. J Hepatol 1997; 26: 642-649
- Aggarwal R, Mishra A, Crochet P, Sirimanna P, Darzi A: Effect of caffeine and taurine on simulated laparoscopy performed following sleep deprivation. Br J Surg 2011; 11: 1666-72
- ARAL AG: Aral Studie, Trends beim Kaffee-Genuss 2011. Available: <http://de.slideshare.net/ActiveBrain/activebrain-powerdrink?related=1>. 2011
- Aramaki S, Suzuki E, Ishidaka O, Momose A: Effects of exercise on plasma concentrations of caffeine and its metabolites in horses. Am J Vet Res 1995; 58: 881-884
- Armuzzi A, Candelli M, Zocco M: Breath testing for human liver function assessment. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16: 1977-1996
- Armuzzi A, Marcoccia S, Zocco M, De Lorenzo A, Grieco A, Tondi P, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A: Non-Invasive assessment of human hepatic mitochondrial function through the <sup>13</sup>C-methionine breath test. Scand J Gastroenterol 2000; 35: 650-653
- Arnaud M: The pharmacology of caffeine. Prog Drug Res 1987; 31: 273-313
- Baker A, Krager P, Kotake A, Schoeller D: The aminopyrine breath test does not correlate with histologic disease severity in patients with cholestasis. Hepatology 1987; 7: 464-467
- Bannier O: Untersuchung der Nikotinkinetik in Abhängigkeit von biologischen und rauchanamnestischen Variablen. Dissertationsschrift, Tübingen: Eberhard-Karls-Universität. 2008
- Benowitz N, Hall S, Modin G: Persistent increase in caffeine concentrations in people who stop smoking. Br Med J 1989; 198: 1075-1076
- Bertz R, Granneman G: Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. Clin Pharmacokinet 1997; 32: 210-258
- Bircher J, Küpfer A, Gikalow I, Preisig R: Aminopyrine demethylation measured by breath analysis in cirrhosis. Clin Pharmacol Ther 1976; 20: 484-492
- BMG: Rauchen [Online]. Bundesministerium für Gesundheit. Available: <http://www.bmg.bund.de/glossarbegriffe/r/rauchen.html>. 2015
- Braden B, Caspary W, Lembcke B: Non-dispersive infrared spectrometry for <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub>-measurement: A clinically feasible analyzer for stable isotope breath tests in gastroenterology. Z Gastroenterol 1999; 37: 477-481

- Braden B, Lembcke B, Caspary W: Stabile Isotope in Diagnostik und Forschung. Neue Möglichkeiten der nicht-invasiven Gastroenterologie und Stoffwechselforschung. Dtsch Med Wschr 1991; 116: 1721-1727
- Branch R: Drugs as indicators of hepatic function. Hepatology 1982; 2: 97-105
- Breimer D, Schellens J: A 'cocktail' strategy to assess in vivo oxidative drug metabolism in humans. Trends Pharmacol Sci. 1990; 11: 223-225
- Brill W, Falck C: Das Kaffein in chemischer, physiologischer und therapeutischer Hinsicht. Pharmacologische Monographie. Marburg: Elwert, 1862: 85
- Brockenmüller J, Roots I: Assessment of liver metabolic function. Clin Pharmacokin 1994; 27: 216-248
- Brodie B, Axelrod J: The fate of aminopyrine (pyramidon) in man and methods for estimation of aminopyrine and its metabolites in biological material. J Pharmacol Exp Ther 1950; 99: 171-184
- Brösicke H: Bestimmung der Fettsäureoxidation Frühgeborener mit dem  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemtest während kontinuierlicher  $^{13}\text{C}$ -Triolein-Infusion. In: Ahnefeld F, Hartig W, Holm E, Kleinberger G (eds.): Klinische Ernährung. München, Bern, Wien, San Francisco: Zuckschwerdt, 1987: 100-150
- Caspary W, Schäffer J, Brunner G, Schmidt G, Creutzfeldt W:  $^{14}\text{C}$ -Aminopyrin-(Pyramidon)-Atemtest: neuer quantitativer Leberfunktionstest. Verh Dtsch Ges Inn Med 1976; 82: 286-289
- Caubet M, Laplante A, Caillé J, Brazier J: [ $^{13}\text{C}$ ]Aminopyrine and [ $^{13}\text{C}$ ]caffeine breath test: influence of gender, cigarette smoking and oral contraceptives intake. Isotopes Environ Health Stud 2002; 38: 71-77
- Chang G, Kam P: The physiological and pharmacological roles of cytochrome P450 isoenzymes. Anaesthesia 1999; 54: 42-50
- Chou T: Wake up and smell the coffee. Caffeine, coffee, and the medical consequences. West J Med 1992; 157: 544-553
- Czok G: Untersuchungen über die Wirkung von Kaffee. Z Ernährungswiss 1966; 5: 96
- DKFZ: Wirkungsweise des Nikotins [Online]. Heidelberg: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ). 2014
- Dubuc M, Sebastien H, Brazier J:  $^{13}\text{C}$ -basal abundance of expired  $\text{CO}_2$ -definition of prerequisites for kinetic breath test. Isotopes Environ Health Stud 2000; 36: 177-188
- Eichler O, Ammon A: Kaffee und Coffein. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1976: 491
- Faust V (eds.) (2012): Psychische Störungen heute : erkennen - verstehen - behandeln. Heidelberg, München, Landsberg, Frechen, Hamburg: ecomed Medizin, 2012:
- Forth W: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie und Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker. München, Jena: Urban & Fischer, 2001: XXI, 1258
- Forth W, Adam O: Umgang mit einem Genussmittel, das auch pharmakologische Wirkungen entfalten kann. Dt Ärztebl 2001; 98: 2816

- Fredholm BB, Bättig K, Holmén J, Nehlig A, Zwartau EE: Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Reviews* 1999; 51: 83-133
- Frings S: Seminar: Biologie der Drogenabhängigkeit, SS 05 Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg. 2005
- Frye R: Probing the world of cytochrome p450 enzymes. *Mol Interv* 2004; 4: 157-162
- Gasic S, Waldhäusl W: Diabetes mellitus und koronare Herzkrankheit. *Journal für Kardiologie - Austrian J Cardiol* 2000; 10: 407-415
- Ghoos Y: Breath tests in gastric emptying and transit studies: Technical aspects of  $^{13}\text{CO}_2$ -breath tests. In: Jansens, J (ed.): *Progress in understanding and management of gastrointestinal motility disorders*. 1993: 169-180
- Ghoos Y, Rutgeerts P, Hiele M: Use of stable isotopes in medical practice:  $\text{CO}_2/\text{H}_2$  breath tests as clinical diagnostic tests. *Universitaire Ziekenhuizen Leuven* 1994:
- Giannini E, Fasoli A, Chiarbonello B, Malfatti F, Romagnoli P, Botta F, Testa E, Polegato S, Fumagalli A, Testa R:  $^{13}\text{C}$ -aminopyrine breath test to evaluate severity of disease in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 717-725
- Golden D, Spano J, Wilson R, De Graves F, Whatley E: Application of an enzyme-multiplied immunoassay technique for determination of caffeine elimination kinetics as a test of liver function in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 1994; 55: 790-794
- Graefe K-H, Lutz W, Bönisch H: *Pharmakologie und Toxikologie*. Stuttgart: Thieme, 2011: 841
- Gressner AM, Arndt T (eds.) (2013): *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2013:
- Guillon J, Souillet G, Riviere J, Gerard F, Guilluy R, Brazier J: Action of methotrexate on cytochrome P-450 monooxygenases in rats: Study performed with  $^{13}\text{C}$ -aminopyrine micro breath test. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1994; 19: 119-124
- Haustein K-O, Groneberg D: *Tabakabhängigkeit: gesundheitliche Schäden durch das Rauchen ; Ursachen - Folgen - Behandlungsmöglichkeiten - Konsequenzen für Politik und Gesellschaft*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2008:
- Henry D, Kitchingman G, Langman M: The  $^{14}\text{C}$  Aminopyrine breath analyses and conventional biochemical tests as predictors of survival in cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1985; 30: 813-818
- Herbig H: Ist das Nicotin ein Gefäßgift? *Dt Z Chirurg* 1942; 256: 468-488
- Hielscher Ultrasonics GmbH: *Ultraschall-Extraktion von Koffein und anderen aktiven Wirkstoffen* [Online]. Teltow: Hielscher Ultrasonics GmbH. Available: <https://www.hielscher.com>. 2015
- Hierholzer K, Allolio B (eds.) (1991): *Pathophysiologie des Menschen*. Weinheim, Basel, Cambridge, New York: Ed. Medizin, VCH, 1991: 1000
- Horsmans Y, Brenard R, Geubel A: Interferon-alpha decreases  $^{14}\text{C}$ -aminopyrine breath test values in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 1994; 8: 353-355
- Irving C, Schoeller D, Nakamura K, Baker A, Klein P: The aminopyrine breath test as a measure of liver function. A quantitative description of its metabolic basis in normal subjects. *J Lab Clin Med* 1982; 100: 356-373

- Jones P, Leatherdale S: Stables isotopes in clinical research: safety reaffirmed. Clin Sci 1991; 80: 277-80
- Kaplan G, Greenblatt D, Ehrenberg B, Goddard J, Cotreau M, Harnatz J, Shader R: Dose-dependent pharmacokinetics and psychomotor effects of caffeine in humans. J Clin Pharmacol 1997; 37: 693-703
- Karow T, Lang-Roth R: Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2013. Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis. Pulheim: Eigenverlag T. Karow, 2013: 1275
- Kasicka-Jonderko A, Loska D, Jonderko K, Kaminska M, Blonska-Fajfrowska B: Interference of acute cigarette smoking with  $^{13}\text{C}$  methacetin breath test. Isotopes Environ Health Stud 2011; 47: 34-41
- Keller J: Funktionsdiagnostik von Sekretion, Absorption und Motilität. Praktische Gastroenterologie. München: Elsevier, Urban & Fischer, 2011: 71-83
- Kersting M (eds.) (2009): Coffein. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2009:
- Klein P, Klein R: Application of stable isotopes to pediatric nutrition and gastroenterology: measurement of nutrient absorption and digestion using  $^{13}\text{C}$ . J Pediatr Gastroenterol Nutr 1985; 4: 9-19
- Klinker H: Abklärung pathologischer Leberwerte: Was ist notwendig, was ist überflüssig? Vorlesung: Infektiologische Visiten auf der Intensivstation: Universität Würzburg, Medizinische Fakultät. 2014
- Landgraf C: Die Auswirkungen von Nikotin und eines Nikotinentzugs auf polysomnografische und neuroendokrine Parameter. Dissertationsschrift, Göttingen: Georg-August Universität. 2013
- Lane E: The aminopyrine breath test for the evaluation of liver function in alcoholic patients: drug pharmacokinetics and environmental factors. Adv Alcohol Subst Abuse 1988; 7: 25-32
- Langer SJ: Die Effekte von Nikotin auf das vestibuläre System in Ruhe und in Bewegung vergleichend bei Rauchern und Nichtrauchern. Dissertationsschrift, München: Univ. 2014
- Leclercq I, Horsmans Y, Desager J, Pauwels S, Geubel A: Dietary restriction of energy and sugar results in a reduction in human cytochrome P450 2E1 activity. Br J Nutr 1999; 82: 257-262
- Leitzmann P, Heine W, Wutzke K, von Bismarck P, Dorlöchter L, Niera O, Bührlen M, Cornelissen B, Höcker C: Comparison of gastric emptying, blood glucose and oro-cecal transit times after a conventional morning meal and a Kollath breakfast. Z Ernährungswiss 1998; 37: 31-37
- Leon J, Dadvand M, Canuso C, Odom White A, Stanilla JK, Simpson GM: Schizophrenia and smoking: an epidemiological survey in a state hospital. Am J Psychiatry 1995; 152: 453-455
- Lin J, Lu A: Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. Clin Pharmacokinet 1998; 35: 361-389
- Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC: Biochemie und Pathobiochemie. Berlin: Springer, 2006: 1263
- Maier K-P: Hepatitis - Hepatitisfolgen. Praxis der Diagnostik, Therapie und Prophylaxe akuter und chronischer Lebererkrankungen. Bern: Huber, 2010: 457

- Malmendier C, Delcroix C, Berman M: Interrelations in the oxidative metabolism of free fatty acids, glucose, and glycerol in normal and hyperlipemic patients. A compartmental model. *J Clin Invest* 1974; 54: 461-76
- Meinke A: Der Einfluss eines kurzzeitigen Rotweingenusses auf die mitochondriale und mikrosomale Entgiftungsfunktion der gesunden Leber. Dissertationsschrift, Rostock: Univ. Med Fak. 2006
- Merkel C, Bolognesi M, Bellon S, Bianco S, Honisch B, Lampe H, Angeli P, Gatta A: Aminopyrine breath test in the prognostic evaluation of patients with cirrhosis. *Gut* 1992; 6: 836-842
- Miotti T, Bircher J, R P: The 30-minute aminopyrine breath test: optimization of sampling times after intravenous administration of  $^{14}\text{C}$ -aminopyrine. *Digestion* 1988; 39: 241-250
- Mühleib F, Detering W: Kaffee und Gesundheit. Hamburg: Dt. Kaffee-Verb, 1996: 48
- Musialik J, Jonderko K, Kasicka-Jonderko A, Buschhaus M:  $^{13}\text{CO}_2$  breath tests in non-invasive hepatological diagnosis. *Prz Gastroenterol* 2015; 10: 1-6
- Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz A, Feeley M: Effects of caffeine on human health. *Food Addit Contam* 2003; 20: 1-30
- Nieber K, Felke S, Schmalz A: Genussmittel und Arzneistoff. *Pharmazeutische Zeitung* [Online]. Available: <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=2523>. 2007
- Opekun A, Klein P, Graham M:  $^{13}\text{C}$ -Aminopyrine breath test detects altered liver metabolism caused by low-dose oral contraceptives. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 2417-2422
- Park G, Katelaris P, Jones D, Seow F, Le Couteur D, Ngu M: Validity of the  $^{13}\text{C}$ -caffeine breath test as a noninvasive, quantitative test of liver function. *Hepatology* 2003; 38:
- Peck K, Mealey K, Matthews N, Taylor T: Comparative pharmacokinetics of caffeine and three metabolites in clinically normal horses and donkeys. *Am J Vet Res* 1997; 58: 881-884
- Pijls KE, Vries H, Nikkessen S, Bast A, Wodzig WKWH, Koek GH: Critical appraisal of  $^{13}\text{C}$  breath tests for microsomal liver function: aminopyrine revisited. *Liver Int* 2014; 34: 487-494
- Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G: Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 1996; 382: 255-257
- Radke M, Heine W, Wutzke K, Leitzmann P, Walther F: Tracer kinetic studies on a methionine-supplement soy-based infant formula using 1- $^{13}\text{C}$ - and  $^{15}\text{N}$ -methionine as tracer. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 209-214
- Rating D, Langhans C: Breath tests: concepts, applications and limitations. *Eur J Pediatr* 1997; 156 18-23
- Reichen J, B A, Schafroth U, Zimmermann A, Zeltner T, Zysset T: Aminopyrine N-demethylation by rats with liver cirrhosis. *Gastroenterology* 1987; 93: 719-726
- Renaud S, de Lorgeril M, Delaye J, Guidollet J, Jacquard F, Mamelle N, Martin J, Monjaud I, Salen P, Toubol P: Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 61 [6 Suppl]: 1360S-1367S
- Ritchie K, Artero S, Portet F, Brickman A, Muraskin J, Beanino E, Ancelin M-L, Carrière I: Caffeine, cognitive functioning, and white matter lesions in the

- elderly: establishing causality from epidemiological evidence. *J Alzheimer's Dis* 2010; 20 [Suppl 1]: 161-166
- Rocklage E, Pittrich W: Tabakabhängigkeit. Rauchen zwischen Genuss und Behandlungsbedürftigkeit. *Beiträge aus Praxis und Wissenschaft* 2001: 112
- Saunders J, Wright N, Lewis K: Predicting outcome of paracetamol poisoning by use  $^{14}\text{C}$ -aminopyrine breath test. *Br Med J* 1980; 280: 279-280
- Schmidt G, Becker D (eds.) (2015): *Kursbuch Ultraschall: Nach den Richtlinien der DEGUM und der KBV*. Stuttgart, New York: Thieme, 2015: 592
- Schneider J, Baker A, Haines N: Aminopyrine-N-demethylation: a prognostic test of liver function in patients with alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1980; 79: 1145-1150
- Schoeller D, Baker A, Mon Roe P: Comparison of different methods of expressing results of the aminopyrine breath test. *Hepatology* 1982; 2: 455-462
- Schoeller D, Klein P, Watkins J, Heim T, MacLean W:  $^{13}\text{C}$  abundance of nutrients and the effect of variations in  $^{13}\text{C}$  isotopic abundances of test meals formulated for  $^{13}\text{CO}_2$  breath tests. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 2375-2385
- Schoeller D, Schneider J, Solomons N, Watkins J, Klein P: Clinical diagnosis with the stable isotope  $^{13}\text{C}$  in  $\text{CO}_2$  breath tests: methodology and fundamental considerations. *J Lab Clin Med* 1977; 90: 412-416
- Schölmerich J, Manns MP, Fleig W: *Diagnostik in der Gastroenterologie und Hepatologie*. Stuttgart, New York Thieme, 1993: 211
- Schrenk D, Brockmeier D, Morike K, Bock K, Eichelbaum M: A distribution study of CYP1A2 phenotypes among smokers and non-smokers in a cohort of healthy Caucasian volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1998; 53: 361-367
- Schulze C: Prüfung der Leberfunktion mit Hilfe der  $^{13}\text{C}$ -Atemteste Aminopyrin und Methacetin bei Patienten mit einer kompletten Querschnittlähmung unterschiedlicher Höhenlokalisation. *Dissertationsschrift: Ruhr-Universität Bochum*. 2002
- Schumacher G, Brösicke H, Pfundstein A, Helge H: Cytochrom P450-Enzyminduktion bei Rauchern. Untersuchungen mit dem  $^{13}\text{C}$ -Coffein-Atemtest. *Isotopes Environ Health Stud* 1992; 28: 35-36
- Sensing H, Haustein K, Huller G: Die hepatische Ausscheidung von Aminopyrin zur Beurteilung der Leberfunktion bei hormoneller Kontrazeption. *Ges Inn Med* 1983; 38: 622-626
- Smith JW, Stolerman IP: Recognising nicotine: the neurobiological basis of nicotine discrimination. *Handb Exp Pharmacol* 2009; 192: 295-333
- StatA MV: Raucheranteil in Mecklenburg-Vorpommern deutlich gesunken, aber im Ländervergleich zweithöchste Quote. *Pressemeldung [Online]*. Available: [http://www.statistik-mv.de/cms2/STAM\\_prod/STAM/de/bhf/Presseinformationen/index.jsp?&pid=93456](http://www.statistik-mv.de/cms2/STAM_prod/STAM/de/bhf/Presseinformationen/index.jsp?&pid=93456). 2015
- Statista GmbH: Pro-Kopf-Konsum von Kaffee in ausgewählten Ländern weltweit im Jahr 2014 (in Kilogramm Rohkaffee). 01. Dezember 2015 ed, Hamburg: Statista - Das Statistik-Portal. 2015a
- Statista GmbH: Pro-Kopf-Verbrauch von Zigaretten in Deutschland in den Jahren 1964 bis 2014 (in Stück) 01. Dezember 2015 ed, Hamburg: Statista - Das Statistik-Portal. 2015b

- Stavric B, Gilbert S: Caffeine metabolism: A problem in extrapolating results from animal studies to humans. *Acta Pharm Jugosl* 1990; 40: 475-489
- Stein J, Wehrmann T: Funktionsdiagnostik in der Gastroenterologie. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio: Springer, 2006: 358
- Stiftung Warentest: Nicht jeder hat Klasse. test 2009: 20-26
- Swanson JA, Lee JW, Hopp JW: Caffeine and nicotine: a review of their joint use and possible interactive effects in tobacco withdrawal. *Addict Behav* 1994; 19: 229-256
- Swart G, van den Berg J: <sup>13</sup>C Breath tests in gastroenterological practice. *Scand J Gastroenterol* 1998; 225 13-18
- Thielemann M: Teuer oder billig: Kaffee. ZDF WISO [Online]. Available: <http://www.zdf.de/wiso/teuer-oder-billig-kaffee-38161016.html>. 2015
- Thomalla B: Tabakkonsum und ADHS-Symptome: Nikotin als möglicher Versuch einer Selbstmedikation kognitiver Defizite. Dissertationsschrift, Bonn: Univ. 2014
- Urbain D, Muls V, Thy O, Ham H: Aminopyrine breath test improves long-term prognostic evaluation in patients with alcoholic cirrhosis in child classes A and B. *J Hepatol* 1995; 22: 179-183
- Wang Z, Zou J, Cao K, Hsieh T, Huang Y, Wu J: Dealcoholized red wine containing known amounts of resveratrol suppresses atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits without affecting plasma lipid levels. *Int J Mol Med* 2005; 5: 533-540
- Wetzel K, Fischer H: <sup>13</sup>C-Atemtests in der medizinischen Forschung und klinischen Diagnostik. Grossbothen, Leipzig: Fischer Analysen Instrumente GmbH (FAN). 2001
- Wick-Urban B: Lebererkrankungen, Störfall in der Chemiefabrik. *Pharmazeutische Zeitung online* [Online]. 20. 2011
- Wurzbacher SRJ: Der Aminopyrin-Atemtest als hepatischer Verlaufsparemeter in der abdominalen Sepsis. Dissertationsschrift, München: Techn Univ. 2007
- Wutzke K, Forberger A, Wigger M: Effect of alcohol consumption on the liver detoxication capacity as measured by [<sup>13</sup>C]methacetin- and [methyl-<sup>13</sup>C]methionine-breath tests. *Isotopes Environ Health Stud* 2008; 44: 219-226
- Wutzke K, Heine W, Koster D, Muscheites J, Mix M, Mohr C, Popp K, Wigger M: Metabolic effects of Hay's diet. *Isotopes Environ Health Stud* 2001; 37: 227-237
- Wutzke K, Meinke A, Wigger M: The Rostock red wine study: the impact of alcohol on the detoxification capacity of the liver measured by [<sup>13</sup>C]methacetin- and [methyl-<sup>13</sup>C]methionine-breath tests. *Aktuel Ernährungsmed* 2007; 32: 93-124
- Wutzke KD, Wigger M: Effect of alcohol consumption on the liver detoxication capacity as measured by [<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]aminopyrine and L-[1-<sup>13</sup>C]phenylalanine breath tests. *Isotopes Environ Health Stud* 2009; 45: 185-191
- Zagermann-Muncke P: Rauchen gefährdet Ihre Arzneimittel-Therapie. *Pharmazeutische Zeitung* [Online]. 2004



## 10 Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: Individuelle Daten der Nichtraucher-Probanden .....	22
Tabelle 2: Individuelle Daten der Raucher-Probanden .....	22
Tabelle 3: Zigarettenkonsum der Raucher.....	25
Tabelle 4: Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen, zweiseitiger t-Test, jeweils 20 Beobachtungen .....	48
Tabelle 5: Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter $^{13}\text{C}_2$ Aminopyrin unter Koffeinabstinenz .....	63
Tabelle 6: Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter $^{13}\text{C}_3$ Coffein unter Koffeinabstinenz .....	64
Tabelle 7: Maximale DOB-Mittelwerte und kumulative prozentuale $^{13}\text{CO}_2$ -Exhalation unter $^{13}\text{C}_3$ Coffein unter Koffeinkonsum.....	64
Abbildung 1: Pro-Kopf-Verbrauch von Zigaretten in Deutschland in den Jahren 1964 bis 2014 (in Stück, Grafik freigegeben durch Statista GmbH, 2015b).....	8
Abbildung 2: Konsum von Kaffee in Deutschland in den Jahren 1953 bis 2014 (in Tonnen Rohkaffee, Grafik freigegeben durch Statista GmbH, 2015a).....	9
Abbildung 3: Chemische Strukturformel des Koffeins (Frings, 2005).....	10
Abbildung 4: Chemische Strukturformel des Nikotins (Frings, 2005).....	12
Abbildung 5: Hauptmetabolisierungswege des Koffeins (Abraham, 2002) .....	16
Abbildung 6: Strukturformel von $^{13}\text{C}_2$ Aminopyrin (Schulze, 2002) .....	24
Abbildung 7: Strukturformel von $^{13}\text{C}_3$ Coffein (Hielscher Ultrasonics GmbH, 2015) .....	24
Abbildung 8: Schema der Testreihe der Nichtraucher .....	26
Abbildung 9: Schema der Testreihe der Raucher .....	26
Abbildung 10: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher und Raucher nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz .....	32
Abbildung 11: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher und Raucher nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz .....	33
Abbildung 12: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher und Raucher nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum .....	34

Abbildung 13: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation aller Probanden nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz.....	36
Abbildung 14: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Nichtraucher nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz ...	36
Abbildung 15: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation der Raucher-Probanden nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum und Koffeinabstinenz .....	37
Abbildung 16: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Frauen und Männern nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz.....	38
Abbildung 17: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtraucherinnen und Raucherinnen nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz .....	39
Abbildung 18: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtrauchern und Rauchern nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe unter Koffeinabstinenz .....	39
Abbildung 19: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Frauen und Männern nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz .....	41
Abbildung 20: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtraucherinnen und Raucherinnen nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz .....	41
Abbildung 21: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtrauchern und Rauchern nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinabstinenz.....	42
Abbildung 22: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Frauen und Männern nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum .....	43
Abbildung 23: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtraucherinnen und Raucherinnen nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum.....	43
Abbildung 24: Gemessene DOB-Werte und kumulative prozentuale Exhalation von Nichtrauchern und Rauchern nach $^{13}\text{C}$ -Coff-Gabe unter Koffeinkonsum.....	44
Abbildung 25: DOB-Spitzenwerte des [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer .....	46
Abbildung 26: DOB-Spitzenwerte des [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer .....	46

Abbildung 27: Kumulative prozentuale Exhalationswerte des [ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer.....	47
Abbildung 28: Kumulative prozentuale Exhalationswerte des [ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Atemgastests, G = gesamt, F = Frauen, M = Männer.....	47
Abbildung 29: Vergleich der prozentualen kumulativen Exhalation (KPEx in %) nach $^{13}\text{C}$ -Ampy-Gabe ohne und mit Alkoholkonsum (Wutzke und Wigger, 2009) sowie ohne und mit Nikotin-Konsum (Nichtraucher vs Raucher).....	70

## 11 Verzeichnis der Abkürzungen

$^{12}\text{C}$	$^{12}\text{Kohlenstoff}$
$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{Kohlenstoff}$
$^2\text{H}$	$^2\text{Wasserstoff}$
$^{15}\text{N}$	$^{15}\text{Stickstoff}$
$^{18}\text{O}$	$^{18}\text{Sauerstoff}$
AAT	[ $^{13}\text{C}_2$ ]Aminopyrin-Atemtest
ALAT	Alanin-Aminotransferase
$^{13}\text{C}$ -Ampy	$^{13}\text{C}$ -Aminopyrin[4,4'-Di[ $^{13}\text{C}$ ]methylaminoantipyrin]
AMP	Adenosinmonophosphat
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body Maß Index
$^{13}\text{C}$ -Coff	$^{13}\text{C}$ -[N-3-Methyl]Coffein
cAMP	Cyclisches-AMP
CAT	[ $^{13}\text{C}_3$ ]Coffein-Atemtest
CT	Computertomografie
KPEx	Kumulative prozentuale Exhalation
DOB	Delta over Baseline
GDH	Glutamatdehydrogenase
HWZ	Halbwertszeit
KA	Koffeinabstinenz
KG	Körpergewicht
KK	Koffeinkonsum
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
NR	Nichtraucher, gesamt
NRF	Nichtraucherinnen
NRM	Männliche Nichtraucher
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
R	Raucher, gesamt
RF	Raucherinnen
RM	Männliche Raucher

## **Selbständigkeitserklärung**

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

**Silvia Nern**

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Professor Dr. K.-D. Wutzke für die Themenvergabe, die freundliche Betreuung, hilfreiche Literaturbereitstellung sowie für seine Geduld bei der zeitaufwändigen Anfertigung dieser Arbeit.

Frau Schläfke und Frau Salewski, medizinisch-technische Assistentinnen in der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin Rostock, für die umfassende Unterstützung bei der Probenanalytik und der weitreichenden Hilfestellung bei den Ergebnisermittlungen.

Frau Dr. Dinse für die Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung und der hilfreichen Unterstützung im Rahmen des Lektorats.

Meinem Mann Stefan und meinen drei tollen Kindern für die Geduld und Entbehrungen, die die Fertigstellung dieser Arbeit in den letzten Wochen und Monaten erforderte.

Meinen Eltern, besonders meiner Mutter, für die unermüdliche Unterstützung in allen Bereichen und zu jeder Zeit hinsichtlich der Fertigstellung der Dissertation.

Frau Dr. Cornelia Stahlknecht, Herrn Matthias Träger und Herrn Hans E. Thierfelder für die regelmäßigen motivierenden Gespräche und den erforderlichen kollegialen Zuspruch.

An dieser Stelle möchte ich mich auch ganz herzlich bei allen Versuchsteilnehmern (Freunden und Kollegen) bedanken, die viel Zeit und körperliche Anstrengungen investieren mussten und somit durch ihre zuverlässige und engagierte Mitarbeit diese Studie überhaupt erst ermöglicht haben.

## Anhang

**Tabelle A1: Gemessene DOB-Werte [‰] aller Teststichproben mit Anzahl Probanden (n), Mittelwert (MW), Minimum (min), Maximum (max) und Standardabweichung (s)**

Probanden	n	MW [ $\ddot{Y}$ ]	min [ $\ddot{Y}$ ]	max [ $\ddot{Y}$ ]	s
<b>Koffeinabstinenz</b>					
<b>CAT</b>					
Gesamt	17	2,52	0,62	3,61	0,75
Frauen	9	2,23	0,60	3,11	0,61
Männer	8	2,84	0,64	4,18	0,92
NR	12	2,13	0,58	3,18	0,64
NRF	6	1,85	0,68	2,90	0,44
NRM	6	2,47	0,58	3,90	0,88
R	5	3,38	1,68	4,76	0,89
RF	3	2,99	0,43	4,40	1,08
RM	2	3,96	0,80	5,45	1,15
<b>AAT</b>					
Gesamt	17	5,96	2,81	9,76	2,39
Frauen	9	5,73	2,44	9,12	2,31
Männer	8	6,24	3,24	10,95	2,57
NR	12	6,04	3,24	9,25	2,04
NRF	6	5,74	3,18	7,95	1,64
NRM	6	6,34	3,30	10,93	2,52
R	5	5,76	1,76	11,00	3,26
RF	3	5,65	0,97	11,63	3,84
RM	2	5,93	1,25	11,50	2,82
<b>Koffeinkonsum</b>					
<b>CAT</b>					
Gesamt	16	2,33	0,88	3,06	0,48
Frauen	9	2,18	0,66	3,03	0,49
Männer	7	2,51	1,16	3,53	0,59
NR	11	2,14	0,87	3,05	0,42

Probanden	n	MW [ $\ddot{Y}$ ]	min [ $\ddot{Y}$ ]	max [ $\ddot{Y}$ ]	s
NRF	6	2,06	0,70	2,95	0,43
NRM	5	2,40	1,14	3,18	0,53
R	5	2,58	0,82	3,56	0,63
RF	3	2,43	0,57	3,20	0,67
RM	2	2,80	1,20	4,40	0,91

**Tabelle A2: KPEx [%] aller Teststichproben mit Anzahl Probanden (n), Minimum (min), Maximum (max) und Standardabweichung (s) der Mittelwerte der Messungen**

Probanden	n	min [%]	max [%]	s
<b>Koffeinabstinenz</b>				
<b>CAT</b>				
Gesamt	17	0,05	11,05	3,72
Frauen	9	0,05	9,86	3,30
Männer	8	0,05	12,39	4,20
NR	12	0,05	9,31	3,12
NRF	6	0,05	7,94	2,62
NRM	6	0,05	10,67	3,62
R	5	0,04	15,24	5,18
RF	3	0,03	13,70	4,67
RM	2	0,05	17,55	5,94
<b>AAT</b>				
Gesamt	17	0,24	21,91	7,29
Frauen	9	0,28	20,87	6,90
Männer	8	0,20	23,09	7,73
NR	12	0,27	22,56	7,44
NRF	6	0,30	21,73	7,12
NRM	6	0,24	23,38	7,76
R	5	0,74	20,36	6,65
RF	3	0,23	19,13	6,55
RM	2	0,10	22,20	7,64



Probanden	n	min [%]	max [%]	s
<b>Koffeinkonsum</b>				
<b>CAT</b>				
Gesamt	16	0,07	10,71	3,49
Frauen	9	0,06	10,60	3,49
Männer	7	0,09	10,85	3,49
NR	11	0,07	10,13	3,29
NRF	6	0,05	9,77	3,17
NRM	5	0,09	10,56	3,44
R	5	0,08	11,98	3,92
RF	3	0,07	12,27	4,13
RM	2	0,10	11,55	3,63

## **Lebenslauf**

Online nicht veröffentlicht